

АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ

ФАРМАКОЛОГИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ



МОСКВА 1982

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФАРМАЦИИ МЗ СССР
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ
АМН СССР

ФАРМАКОЛОГИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ

МОСКВА — 1982

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФАРМАЦИИ МЗ СССР

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФАРМАКОЛОГИИ АМН СССР

ФАРМАКОЛОГИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ

(Сборник трудов)

Под редакцией академика АМН СССР А.В.Вальдмана

Москва - 1982

Сборник трудов научно-исследовательского
института Фармакологии АМН СССР

Редакционная коллегия: Ю. Б. Елисеенков, С. А. Синица,
канд. мед. наук Н. Н. Клейменова

АВДУЛОВ И

АЛОИЗИ Ф

АНТОНОВА

АШМАРИН

ВАЛЬДМАН

ИГНАТОВ Ю

КАМЕНСКИ

КАСПАРОВ

КЛУША В.Э

КРУТЛИКОВ

ЛОНГО В.Дж

МЕДВЕДЕВ

МУЩЕНИЦЕ

ПАССАРЕЛЛ

ПОШИВАЛОВ

РОЖАНЕЦ В

КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- | | |
|-------------------|---|
| АВДУЛОВ Н.А. | - Институт фармакологии АМН СССР, Москва. |
| АЛОИЗИ Ф. | - Высший институт здравоохранения, Италия, Рим, лаборатория фармакологии. |
| АНТОНОВА Л.В. | - Московский Государственный Университет. |
| АШМАРИН И.П. | - Московский Государственный Университет. |
| ВАЛЬДМАН А.В. | - НИИ фармакологии АМН СССР, Москва. |
| ИГНАТОВ Ю.Д. | - 1 Ленинградский медицинский институт, кафедра фармакологии |
| КАМЕНСКИЙ А.А. | - Московский Государственный университет |
| КАСПАРОВ С.А. | - 1 Московский медицинский институт, кафедра фармакологии |
| КЛУША В.Э. | - Институт органического синтеза АН Латв.ССР лаборатория биологии и фармакологии пептидов, Рига. |
| КРУТЛИКОВ Р.И. | - Институт ВНД и НФ АН СССР, Москва. |
| ЛОНГО В.Дж. | - Высший институт здравоохранения лаборатория фармакологии, Рим, Италия. |
| МЕДВЕДЕВ О.С. | - ВКНЦ АМН СССР, Москва, лаборатория фармакологии. |
| МУЦЕНИЕЦЕ Р.К. | - Институт органического синтеза АН Латв.ССР лаборатория биологии и фармакологии пептидов, Рига. |
| ПАССАРЕЛЛИ Ф. | - Высший институт здравоохранения, лаборатория фармакологии, Рим, Италия. |
| ПОШИВАЛОВ В.П. | - 1 Ленинградский медицинский институт, каф. фармакологии. |
| РОЖАНЕЦ В.В. | - Институт фармакологии АМН СССР, Москва. |
| СВИРСКИС Ш.В. | - Институт органического синтеза АН Латв.ССР, лаборатория биологии и фармакологии пептидов, Рига. |
| СКОТТИ-де-КАРОЛИС | - Высший институт здравоохранения, лаборатория фармакологии, Рим, Италия. |
| ТИТОВ М.И. | - ВКНЦ АМН СССР, Москва. |
| ХАРКЕВИЧ Д.А. | - 1 Московский медицинский институт, кафедра фармакологии. |

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	6
Вальдман А.В. – Пептиды как модуляторы моноаминергических процессов.	9
Клуша В.Е., Муцениеце Р.К., Свирскис Ш.В. – Фрагменты пептидных гормонов как возможные центральные регуляторные факторы.	31
Авдулов Н.А., Рожанец В.В. – Влияние пептидов на мембранные процессы как основа их моноаминергических механизмов. . . .	40
Пошивалов В.П. – Гипоталамо-гипофизарные пептиды и фармакологический контроль внутривидового поведения.	46
Игнатов Ю.Д. – Энкефалины как модуляторы антиноцицептивных и подкрепляющих систем мозга.	57
Харкевич Д.А., Каспаров С.А. – О спинальном компоненте в болеутоляющем действии опиоидных пептидов и наркотических анальгетиков.	69
Алоизи Ф., Пассарелли Ф., Скотти-де-Каролис А., Лонго В.Дж. – Центральное действие дерморфина.	80
Медведев О.С., Титов М.И. – Опиоидные пептиды и регуляция сердечно-сосудистой системы.	88
Ашмарин И.П. – Возможное участие нейропептидов и нейроспецифических белков в механизмах кратковременной памяти. . . .	102
Кругликов Р.И. – Участие нейромедиаторных систем головного мозга в механизмах действия нейропептидов на процессы обучения и памяти.	112
Антонова Л.В., Каменский А.А. – Фармакологическая активность фрагментов АКТГ.	125
ЛИТЕРАТУРА.	138

PREFACE .
 Valdman A.V.
 Klusha B.E.,
 hormones
 Avdulov N.A.
 processes a
 Poshivalov V.
 cological co
 Ignatov Yu.D.
 rewarding b
 Kharkevich D.
 effect of opi
 Aloizi F., Pas
 Dermorphine
 Medvedev O.S.
 cular system
 Ashmarin I.P.
 specific prote
 Kruglikov R.I.
 of neuropepti
 Antonova L.V.
 ACTG fragme
 LITERATURE.

CONTENTS

PREFACE	6
Valdman A.V. — Peptides as modulators of monoaminergic processes	9
Klusha B.E., Muceniece R.K., Svirskis Sh.V. — Fragments of peptide hormones as possible central factors	31
Avdulov N.A., Rozhanets V.V. — Effect of peptides on membrane processes as framework of their monoaminergic mechanisms ...	40
Poshivalov V.P. — Hypothalamo-hypophyseal peptides and pharmacological control of interspecific behaviour	46
Ignatov Yu.D. — Enkephalines as modulators of antinociceptive and rewarding brain systems	57
Kharkevich D.A., Kasparov S.A. — Spinal component in analgetic effect of opioid peptides and narcotic analgetics	69
Aloizi F., Pasarelli F., Scotti-de-Carolis A., Longo V.G. — Dermorphine central effects	80
Medvedev O.S., Titov M.I. — Opioid peptides and regulation of vascular system	88
Ashmarin I.P. — Possible participation of neuropeptides and neurospecific proteins in mechanisms of short-time memory	102
Kruglikov R.I. — Neuromediator systems of cortex and mechanisms of neuropeptide effect on teaching processes and memory	112
Antonova L.V., Kamensky A.A. — Pharmacological activity of ACTG fragments	125
LITERATURE	138

ПРЕДИСЛОВИЕ

Настоящий сборник научных трудов отражает некоторые итоги исследований, выполненных в рамках целевой программы АН СССР "Нейропептиды" и Программы ГКНТ СССР 0.75.04. "Физиологически активные пептиды".

В сборнике рассмотрено несколько аспектов биологического и фармакологического действия нейропептидов: воздействие на эмоционально-поведенческую реактивность и внутривидовое поведение, процессы обучения и памяти, регуляцию болевой чувствительности и гемодинамики. Особый акцент сделан на оценку взаимодействия пептидов с нейромедиаторными системами мозга.

Авторами настоящего издания являются специалисты, работающие в области изучения нейропептидов как в Институте фармакологии АМН СССР, так и в других учреждениях: ВКНЦ АМН СССР, Институте ВНД и нейрофизиологии АН СССР, Институте оргсинтеза АН Латв. ССР, Московском Государственном университете, в 1 Московском и 1 Ленинградском медицинских институтах, а также группа итальянских ученых, с которыми НИИ фармакологии АМН СССР осуществляет международное научное сотрудничество.

Открытие пептидных биорегуляторов явилось огромным и перспективным достижением молекулярной биологии и медицины. Во всем мире осуществляется интенсивная разработка этой проблемы. И уже сегодня, отдельные препараты пептидной природы используются в клинической практике. Интерес к эндогенным пептидным биорегуляторам с каждым годом возрастает, и это вполне оправдано. Пептидные биорегуляторы открылись исследователям как новый принцип интранейрональной коммуникации, как мощные факторы регуляции физиологических реакций и сложных биологических и поведенческих процессов, как материальные носители биологической информации, как новый механизм адаптивного регулирования биохимических процессов организма.

Пептидные биорегуляторы возникли на древних этапах эволюционного развития живых существ. У примитивных хордовых, появившихся на эволюционной лестнице более 600 млн. лет тому назад, в мозговой ткани представлено более десятка пептидов, идентичных нейропептидам мозга человека. Целый ряд так называемых гастроинтестинальных пептидов обнаружен в ЦНС высших млекопитающих, и даже в коже некоторых амфибий. Строение этих пептидов идентично или очень близко к нейропептидам животных.

Пептиды как регуляторы биологических процессов, имеющие столь древнее происхождение, взаимодействуют на уровне живых систем с множеством других регуляторных механизмов, что затрудняет процесс аналитического исследования. Поэтому, несмотря на интенсивное изучение действия нейропептидов, до сих пор весьма интригующей проблемой остается познание способа, посредством которого эти аминокислотные макромолекулы проявляют свое воздействие на биологические функции. Большинство гормонов, нейротрансмиттеров и, видимо,

нейропептидов, развивают свое физиологическое (биохимическое) действие, не проникая внутрь клеточной структуры. Высвобождаясь из клеточных элементов, где они синтезируются, нейропептиды (пептидные гормоны) взаимодействуют со специфическими рецепторами, в свою очередь сопряженными с вторичными посредниками или биохимическими системами, ответственными за генерацию внутриклеточного сигнала. Однако за последние годы выявлена высокая биологическая активность отдельных фрагментов естественных, а также синтетических пептидов, отличающихся по строению от естественных. Для них трудно предположить наличие специфичных мембранных рецепторов. В большинстве случаев эффект таких синтетических пептидов сопряжен с изменением состояния нейрохимических медиаторных систем мозга. Но как химические соединения, такие нейропептиды не комплементарны мембранным рецепторам, они не проявляют прямого агонистического или антагонистического эффекта. Распространено представление о "модулирующем" влиянии нейропептидов в отношении нейромедиаторных систем мозга.

Существо модулирующего действия пептидных регуляторов на нейромедиаторные процессы еще не раскрыто. Но много экспериментальных фактов указывает, что нейропептиды оказывают отчетливое влияние на моноаминергические системы мозга. Модулирующая роль пептидов сводится либо к изменению характеристик возбудимых мембран, либо к воздействию на высвобождение, рецепцию и метаболизм медиатора. При этом действие нейропептида может существенно различаться в зависимости от топографии субстрата, что и определяет многообразие их фармакологических эффектов. Особенно интересно, что физиологическое действие пептидного регулятора зависит от функционального состояния данной биологической системы (клеточной, организменной, популяционной) и может резко различаться, вплоть до полярного эффекта. Модулирующий эффект сводится к преобразованию интранейрональной связи, межклеточной коммуникации. Однако для отдельных пептидов доказана и их медиаторная функция. Все больше накапливается также данных о совместном высвобождении нейромедиатора и нейропептида из одной синаптической терминали. Не получено пока конкретных фактов о способности пептидных молекул выступать в качестве триггеров сложных, комплексных биологических реакций или состояний.

Исследование нейрофармакологических механизмов действия пептидов имеет не только теоретический интерес в плане познания процессов регуляции жизнедеятельности, но и существенное практическое значение. Неограниченные возможности пептидной химии, позволяющей искусственно получать самые разнообразные аналоги природных пептидов, вводить в молекулу отдельные аминокислоты, не содержащиеся в естественных пептидах, преобразовывать молекулу таким образом, чтобы она обладала большей устойчивостью к действию протеолитических ферментов — все это открывает богатые перспективы для конструирования новых лекарств. Весьма плодотворен путь изучения отдельных фрагментов пептидных биорегуляторов. Немало фактов указывает, что энзимная деградация первичной молекулы не приводит к потере биологической активности, а в ряде случаев только под влиянием определен-

ных ферментов из макромолекулы прогормона высвобождается активный пептид. Синтез более коротких аминокислотных цепочек, безусловно, более доступен и экономичен, что крайне важно с позиций последующего производства фармакологических препаратов. Современные успехи синтеза пептидов, технологии производства пептидных препаратов, делают вполне реальной проблему создания новых высокоэффективных лекарств пептидной природы.

Представленные в этой книге новые экспериментальные факты, критически осмысленные и обобщенные литературные данные, отдельные гипотезы – несомненно будут интересны и полезны как для исследователей, участвующих в разработке проблемы нейропептидов, так и для более широкого круга специалистов соответствующего профиля.

Академик АМН СССР

А.В.Вальдман

ПЕПТИДЫ КАК МОДУЛЯТОРЫ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

А.В. Вальдман

За последние годы представления о физиологической роли пептидных гормонов изменились радикально. Выявлено, что "классические" нейрогормоны (вазопрессин, окситоцин) оказывают непосредственное воздействие на психические функции (De Wied, 1980). Гипоталамические "регулирующие" пептидные гормоны (либерины и статины) широко представлены также и в экстрагипоталамических зонах мозга (Hökfelt et al., 1978). Они проявляют целую гамму физиологических эффектов, не связанных с собственно гормональной функцией (De Wied, Gispen, 1977; Barker, 1977; Prange et al., 1978). Многие, так называемые гастроинтестинальные пептиды (холецистокинин, вазоинтестинальный пептид - VIP, гастрин и др.), обнаружены в мозговых структурах, в частности, в коре головного мозга, и проявляют определенные нейрофизиологические эффекты, хотя их функциональная роль еще недостаточно выяснена.

Одним из актуальных вопросов, связанных с проблемой нейропептидов, является выяснение их функциональной роли и способа, каким они воздействуют на нейрональные процессы мозга. Оказывают ли пептидные биорегуляторы специфическое воздействие на пептидергические нейрональные системы как передатчики (трансммиттеры), или же они выступают как модуляторы синаптических процессов, связанных, в частности, с моноаминергическими системами мозга, пока остается неизвестным.

Пептиды - нейротрансммиттеры или нейромодуляторы?

Традиционное противопоставление нейрогормональных и собственно нейрональных элементов мозга по мере изучения пептидергических систем мозга существенно сгладилось. Иммуноцитохимическими методами выявлено наличие большого числа "пептидергических" нейронов в разных зонах мозга, включая и кору больших полушарий (Hökfelt et al., 1978). Показано, что нейропептиды, как и низкомолекулярные нейротрансммиттеры (НА, ДА, 5-ОТ) синтезируются в клеточных телах, аккумулируются в везикулах, достигают терминалей посредством аксоплазматического тока, высвобождаются из терминалей посредством Ca^{++} -зависимого механизма, воздействуют в постсинаптических элементах на аденилат- или гуанилатциклазную активность (Barker, 1977; Nicoll, 1978). Целый ряд морфологических и электрофизиологических данных позволяет предполагать медиаторную функцию ряда низкомолекулярных пептидов, во всяком случае на сегментарном уровне (Nicoll, 1978; Renaud, 1978; Iversen et al., 1980). На основании того, что индуцированное деполяризацией высвобождение ряда нейропептидов (субстанции Р, лей- и мет-энкефалина, соматостатина, нейротензина, VIP, холецистокинина) из различных зон мозга (среды мозга *in vitro*) яв-

ляется кальцийзависимым, в то время как базальное высвобождение пептида в инкубационную среду не зависит от наличия кальция, допустить, что эти пептиды являются нейроредатчиками.

Однако более распространено представление, что нейрорептиды оказывают модулирующее воздействие на процессы, связанные с "классическими" нейромедиаторами. Термины "нейромодулятор", "модулирующий эффект" в последнее время используются очень широко. Однако они не имеют точной дефиниции, а явления, для описания которых они используются, не всегда являются однородными по своей сущности. В самой общей форме как "модулирующий" обозначается эффект, который по своим электрофизиологическим характеристикам не может быть квалифицирован в терминах "возбуждение" (ВПСР) или "торможение" (ТПСР) и отличается от классических представлений о действии синаптического нейроредатчика. Так, на культуре нейронов спинного мозга показано (Barker, 1977), что субстанция Р (СР) и лей-энкефалин в дополнение к эффектам, которые в классических электрофизиологических терминах обозначаются как ВПСР и ТПСР, проявляют еще три типа необычных реакций: повышают порог генерации пикового потенциала, обрывают деполяризацию без изменения мембранной проводимости, изменяют амплитуду ответов на глицин или глутамат, без непосредственного изменения поляризации или сопротивления мембраны. На спинальных нейронах *in vivo* опиатные агонисты угнетают как спонтанную активность, так и возбуждение, вызванное глутаматом или ацетилхолином. Эти эффекты устраняются налуксоном, но не связаны с гиперполяризацией мембраны (Zieglgänsberger, Bayerl, 1976). Предполагается, что нейрорептидное воздействие на нейрональные процессы может осуществляться внесинаптическим путем, за счет регуляции изменения механизмов генерации пиковых потенциалов или пейсмейкерной активности. Нейромодулирующий эффект пептидов может реализоваться посредством контроля нейронального проведения в синапсах (пре- или постсинаптически, за счет изменения обмена медиатора). Следует однако учитывать, что эксперименты с экзогенно введенным пептидом, хотя и дают возможность оценивать влияние различных пептидных регуляторов на нейроредаточные системы мозга, все же не позволяют твердо заключить, что получаемые таким способом факты имеют физиологическое значение. Одним из более прогрессивных методов исследования может являться использование специфических антисывороток к пептидному гормону и оценка развивающихся при этом изменений нейрофизиологических процессов.

Однако противопоставление модулирующего эффекта пептидов на синаптическую передачу по отношению к действию собственно нейроредатчиков (нейротрансмиттеров) несколько условно. Традиционные представления о нейрохимических редатчиках, как посредниках синаптического проведения в моноаминергических системах ЦНС, за последние годы также претерпело существенную эволюцию. Множество данных указывает на внесинаптическое высвобождение таких "классических" нейроредатчиков как норадреналин, серотонин (Vizi, 1980). Электронномикроскопические исследования показали, что большая часть аксональных терминалей или варикозностей моноаминергических

ческих нейронов не образует истинных синаптических контактов (Descargies et al., 1975, 1977). Следовательно, "трансмисмиттер", высвобождаемый из таких внесинаптических образований, распространяется диффузно и может воздействовать на окружающие клеточные популяции различного функционального значения. Тем самым биологически активный амин не выполняет функцию передатчика специфической информации, направленной определенному адресату. Он вызывает какой-то модулирующий эффект, изменяя функциональное состояние нервных элементов. Не следует также забывать, что терминали НА- и 5-ОТ-нейронов, широко представленные в мозговых структурах, образованы сравнительно небольшим числом клеточных тел, расположенных в стволовых структурах (*locus coeruleus* L.C.), *n. raphe* и др.). Аксоны этих нейронов широко ветвятся, поэтому один нейрон перекрывает большие массы структур мозга, что само по себе исключает передачу какого-то локального сигнала. Кроме того, моноаминергические нейроны не получают специализированной по модальности афферентации. Поэтому их роль не состоит в передаче дискретной информации о быстро протекающих процессах. Этим нейронам (L.C., *n. raphe*) свойственна низкочастотная спонтанная активность, изменяющаяся в небольшом диапазоне. Возможно, что такие моноаминергические системы выступают в качестве модуляторов уровня активности клеток-мишеней, проявляют тоническое (трофическое?) воздействие на клеточные ансамбли.

Электрофизиологические данные также указывают, что целый ряд проявлений, вызываемых "медиаторами", не укладывается в простые категории возбуждающего или тормозного эффектов. Так, НА при ионофоретической аппликации угнетает спонтанную активность подавляющего числа нейронов коры головного мозга, клеток Пуркинье мозжечка. Однако, при этом он усиливает быстрые ВПСН, вызванные в нейронах мозжечка с так называемых *climbing fibers*, и быстрые ТПСН, индуцированные корзинчатыми клетками. Активация конвергентного притока афферентации после аппликации НА продолжается несколько минут и после того, как ритм спонтанной активности восстанавливается. Это объясняется тем, что НА повышает сопротивление мембраны клеток Пуркинье, поэтому афферентный приток от L.C. сдвигает операционную активность этих нейронов, изменяя предпочтительность восприятия одного афферентного притока перед другим (Bloom, 1978). В малых концентрациях НА не изменяет ритма разрядов кортикальных нейронов, однако модулирует эффективность синаптического притока (Freedman et al., 1977). Аналогичные наблюдения были опубликованы и в отношении нейронов коры головного мозга (Woodward et al., 1979). Все эти факты интерпретируются в понятиях "модулирующего" эффекта НА. Угнетение спонтанной активности (клетки Пуркинье) вызывает и ГАМК, причем как НА, так и ГАМК угнетают вызванные ответы (на активацию афферентных каналов притока к данным нейронам) значительно меньше, чем спонтанную активность. Но в случае ГАМК это сопровождается снижением мембранного потенциала, а в случае НА — повышением. Следовательно, постсинаптические процессы, вызываемые специфическими нейротрансмиттерами, могут модулироваться НА. Ионофоретическим методом выявлено, что аппликации НА, ДА, 5-ОТ может вызывать изменения, продолжающиеся от нескольких секунд до минут (в от-

Таблица 1. Сопоставление функциональных характеристик нейротрансмиттеров и нейрогормонов

	Нейротрансмиттер	Нейрогормон
Субстанция	Аминокислоты, катехоламины, ацетилхолин, пептиды(?)	Пептиды, предполагаемые (putative) трансммиттеры(?)
Синтез	Клеточное тело, терминали	Клеточное тело, терминали (?)
Транспорт	Быстрый, интравезикулярный	Быстрый, интрагранулярный
Высвобождение	Синаптическая терминаль	Нейроциркуляторная (экстрасинаптическая) терминаль, синаптическая терминаль (?)
Действие	Ca^{++} -зависимое (evoked)	Ca^{++} -зависимое (evoked)
	Ca^{++} -независимое (resting)	Ca^{++} -независимое (resting)
	Быстрое начало (мс-с)	Медленное начало (с-мин)
	Изменение Вольт-независимых свойств мембраны	Изменение Вольт-зависимых свойств мембраны
Инактивация	Короткая длительность (мс-с)	Большая длительность (мин-ч)
	Изменение синтеза белков	Изменение синтеза белков
	Ферментативная, захват	Ферментативная, захват(?)
Функция	Срочная медиация одиночных клеточно-клеточных взаимодействий	Тоническая модуляция клеточных агрегаций и специфического поведения

личие от синаптических потенциалов, протекающих в мс-диапазоне). Допускается, что моноаминергические пути (от L.C., s. nigra, n. raphe) генерируют длительно сохраняющиеся медленные постсинаптические ответы, поскольку их функция не связана с передачей быстрой информации к дискретным нейронам. Поэтому такой тип коммуникации нейронов не требует компактных синаптических контактов. Принципиально такой же тип интранейронального регулирования присущ и нейропептидам, которые могут высвобождаться экстрасинаптически и модулировать процессы синаптического проведения, оказывая долговременное изменение возбудимости нейронов или определенных популяций нейронов.

Таким образом, между так называемыми нейротрансмиттерами (НА, ДА, 5-ОТ) и нейропептидами (нейрогормонами) нет столь существенного различия. Как те, так и другие в определенных локальных элементах мозга могут являться истинными медиаторами в ограниченных зонах синаптических контактов, осуществляя дискретную передачу

сигналов. Однако при внесинаптическом их высвобождении, оказывая еще мало изученное воздействие на пре- или постсинаптические элементы или более сложные процессы, связанные с состоянием мембранных процессов или генома клетки; они изменяют эффективность афферентного притока или способствуют его переключению с одного на другой канал мультисенсорного притока. В последнем случае они выступают как "модуляторы" – индукторы изменения функционального состояния больших клеточных популяций. Сопоставление принципиальных характеристик нейромедиаторов и нейромодуляторов, черты их сходства и различия (по Barker, 1977) представлены в табл. 1.

Понятие о модуляции функционального состояния как эвристическая концепция широко используется для объяснения регуляции поведенческих процессов. В отличие от нейротрансмиттеров, вызывающих краткосрочные изменения синаптических процессов, модулирующее воздействие пептидных регуляторов проявляется как длительно текущее детерминирование уровней нейрональной возбудимости. За счет своего экстраинаптического высвобождения пептидные регуляторы могут осуществлять более широкие формы коммуникативных связей и, помимо регуляции собственно синаптических процессов, модулировать поступление сенсорной информации на разных уровнях афферентных систем, изменять уровень бодрствования, эффективность подкрепляющих систем, регулировать аффективные состояния и процессы обучения и консолидации памятных следов.

Общность пептид- и аминергических клеточных элементов

Для оценки физиологической роли взаимосвязи пептидных биорегуляторов и моноаминов весьма существенно, что все клетки, продуцирующие пептидные гормоны, равно как и нервные клетки, образующие моноамины, развиваются в онтогенезе из общих клеточных эмбриональных элементов – клеточных пластинок, обособляющихся по краям нервной трубки (Pears, Polak, 1978; Le Douarin, 1978). Именно поэтому трудно четко разграничить или противопоставить нейрорегуляторное или эндокринное воздействие ряда эндогенных субстанций, вырабатываемых этими клеточными элементами. По той же причине многие пептиды, высвобождающиеся из эндокринных элементов кишечника и клеточных элементов мозга идентичны (лей- и мет-энкефалин, β -эндорфин, субстанция P, нейротензин, бомбезин, холецистокинин, гастрин, соматостатин, вазоактивный интестинальный пептид – VIP).

На основании данных эмбриогенеза, большого сходства цитохимических свойств и ультраструктурных характеристик нейронов и ряда эндокринных клеток была сформулирована так называемая APUD-концепция (Pears, Polak, 1978). Клетки серии APUD и в центральной нервной системе и на периферии способны продуцировать как пептидные гормоны, так и медиаторные моноамины. Для всех этих элементов характерно содержание биогенных аминов (катехоламины, серотонин), способность к захвату этих аминов или их предшественников, а также присутствие ферментов, осуществляющих декарбоксилирование поглоща-

емых предшественников (Amine-containing and/or : amine precursor uptake and decarboxylation - APUD). Все клетки APUD-типа содержат в цитоплазме гранулы с плотной белковой сердцевиной (dense-core granules), высвобождаемые квантами по механизму экзоцитоза, сопряженного, видимо, с деполяризацией мембраны. Гранулы могут содержать более одного секреторного продукта (пептидный гормон с его белковым носителем, биогенный амин и даже АТФ). Каждая клетка может содержать разные типы гранул с разными комбинациями содержимого, что обуславливает возможность тесной взаимосвязи между пептидергической, моноаминергической и пуринергической регуляторными системами центральной и периферической нервной системы. Радиоиммунологически выявлено наличие соматостатина в ряде норадренергических нейронов симпатической нервной системы, субстанции Р (СП) и тиролиберина в части серотонинсодержащих нейронов ядер шва и продолговатого мозга (Chan-Palay et al., 1978; Hökfelt et al., 1980). Показано сосуществование серотонина и СП в одних и тех же крупных (dense-core) везикулах. Однако механизм их высвобождения и компартментации, видимо, различны, так как резерпин воздействует только на содержание серотонина, но не на уровень иммунореактивности к СП.

Следовательно, принципиально возможна одновременная продукция пептидного регулятора и биогенного амина в одном нейроне и совмещение двух нейрорегуляторных принципов - моноаминергического и пептидергического. Это свидетельствует об их кооперативной функции. Так называемый принцип Дейла, в его ортодоксальном выражении, согласно которому в одном нейроне возможен только один медиатор, не может уже иметь аксиоматического и всеобщего значения (Renaud, 1978; Dismukes, 1979).

Взаимодействие пептидергических и моноаминергических систем

Различными экспериментальными приемами твердо установлено, что нейроны, содержащие пептиды, располагаются не только в гипоталамусе, но и в самых различных отделах мозга. Иммунорадиологический метод выявляет наибольшее содержание лей- и мет-энкефалина в области полосатого тела, а β -эндорфина и СП в септальной области и среднем мозге, холецистокинина (ССК-8) и вазоинтестинального пептида (VIP) в коре головного мозга, нейротензина - в стволовой части мозга и пр. (Hökfelt et al., 1978). В тех же мозговых субстратах широко представлены и моноаминергические нейроны или их терминали. Во многих случаях пептидергические нейроны образуют не только аксосоматические, но и аксоаксональные контакты с моноаминергическими нейронами (рис. 1). Так, метэнкефалиновые терминали пресинаптически контактируют с аксонами и терминалями, содержащими СП, опиоидные рецепторы выявляются как на аксонных терминалях НА-нейронов L.C., так и на самих нейронах L.C. (Pickel et al., 1979). Опиоидные пептиды вовлекаются в регуляцию функциональных процессов, опосредованных НА-системой L.C. через дорсаль-

Рис. 1. Схема взаимодействия пептидергического (Р) и моноаминергического (НА) нейронов. 1 - аксосоматический контакт (прямое взаимодействие). 2 - аксоаксональный контакт (вторичное взаимодействие). Hökfelt et al., 1980.

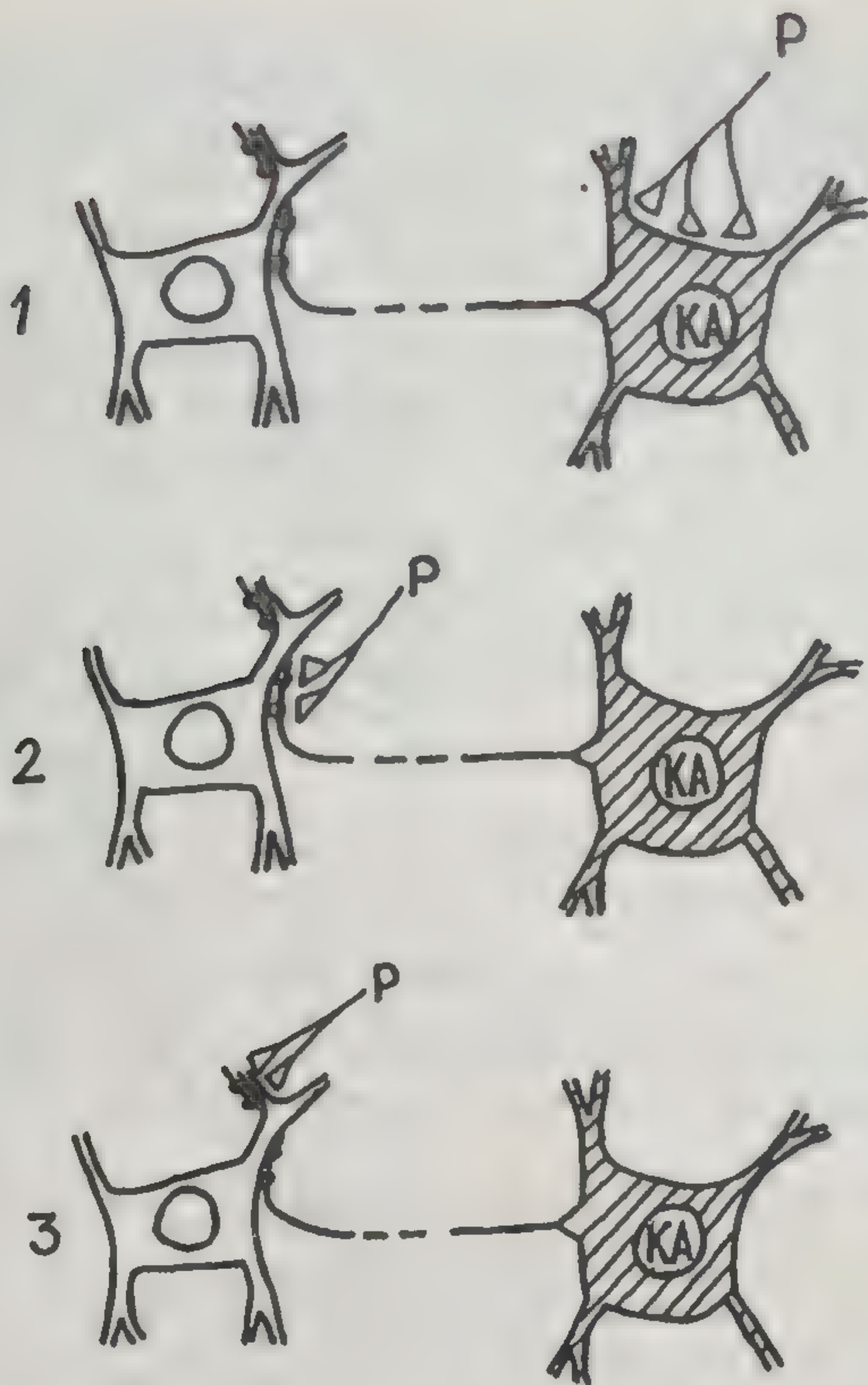


Рис. 1. Схема различных типов взаимодействия между катехоламинергическим (КА) нейроном и терминалями пептидергического (Р) нейрона (по данным флуоресцентной микроскопии): 1- аксосоматические или аксодендритные контакты на КА-нейроне (дискретное взаимодействие); 2 - аксоаксональные контакты (прямое взаимодействие Р- и КА-нейронов на аксонах и соме вторичного нейрона); 3 - не прямое взаимодействие Р- и КА-терминалей на одном дендрите вторичного нейрона (по Hökfelt et al., 1978).

ный НА-пучок (Arnstén et al., 1981). Ионотропическая аппликация НА угнетает разряды нейронов L.C., опиоиды уменьшают высвобождение НА из срезов коры головного мозга. Налоксон обладает противоположным эффектом. Следовательно, эндогенные опиоидные пептиды обладают угнетающим воздействием на НА систему L.C. (Strahlendorf et al., 1980).

Достаточно обосновано представление, что модулирующее влияние вазопрессина на процессы памяти опосредовано НА-терминалями дорсального НА-пучка на мезолимбическом уровне (Kovács et al., 1980). Kloet, De Wied, 1980). Вазопрессин-содержащие терминали распространены в миндалине, гиппокампе, где образуют синапсы с рядом нейронов мозга. Введение в мозговой желудочек вазопрессина или антисыворотки к нему воздействует на метаболизм КА в противоположных направлениях. Это указывает на роль эндогенного вазопрессина в модуляции КА-процессов. Эффект вазопрессина на пассивное избегание может быть предотвращен угнетением синтеза КА или деструкцией дорсального НА-пути (Kovács et al., 1980). Вазопрессин и окситоцин обладают противоположным влиянием на содержание ДА в полосатом теле и на процессы обучения. Однако эффекты пептидов на моноаминергические (МА) процессы мозга значительно отличаются в разных морфологических и функциональных его отделах. При анализе содержания МА в дискретных областях мозга выявлено, что вазопрессин снижает ДА в гипоталамусе, септальной зоне, среднем мозге, но не влияет на содержание НА или 5-ОТ; окситоцин снижает содержание НА (но не ДА) в гипоталамусе, септальной зоне, полосатом теле и снижает 5-ОТ в перегородке. Люлиберин повышает уровень ДА избирательно в гипоталамусе, но не в других зонах мозга. Arg⁸-вазопрессин при введении в желудочек мозга на фоне α -МТ способствовал ускорению снижения содержания ДА в 8 ядерных структурах лимбического, среднего и продолговатого мозга, но не оказывал влияния на содержание ДА в других 35 исследованных ядрах (Tanaka et al., 1977).

Период полураспада пептидных регуляторов составляет минуты, в то время как их воздействие на физиологические процессы может выявляться в течение значительно более длительного периода (часы, сутки). Одним из объяснений этого различия является предположение о реализации физиологических эффектов пептидов опосредованно, через МА-механизмы мозга. Пептидные гормоны могут модулировать МА передачу разными способами: воздействуя на катаболизм или биосинтез МА в терминалях, изменяя состояние постсинаптического рецептора для МА, посредством влияния на процессы высвобождения и обратного захвата МА, изменяя мембранную проницаемость. Эти эффекты пептидов могут быть, в частности, реализованы посредством пептидных рецепторов, заканчивающихся на МА-ергических элементах (Pickel et al., 1979). Однако в ряде случаев модулирующее воздействие на МА осуществляется и иным путем. Так динарфин, один из опиоидных пептидов, изменяет содержание ДА и 5-ОТ во фронтальной коре, септальной зоне, полосатом теле, видимо, не через посредство опиатных рецепторов, поскольку налоксон не блокирует этого воздействия динарфина на обмен МА (Kovács, Telegdy, 1981). Дез-тирозин-энкефалин не взаимодействует с опиатным рецептором, однако влияет на содержание и обмен МА (Kloet, De Wied, 1980).

Модулирующее воздействие пептидов на МА-системы и процессы может осуществлять не только высвобождающимся из пептидергической терминали пептидом. Одним из принципов пептидергической регу-

ляции является высвобождение активного пептида из более крупного макромолекулярного пропептида под влиянием протеолитических ферментов, находящихся непосредственно в нейрональных мембранах. Мембраносвязанные ферменты высвобождают различные аминокислотные последовательности (сегменты), которые могут проявлять самые разные виды биологической активности. Показано (Burbach, De Wied, 1980), что ферментные системы, ассоциированные с синаптосомальными мембранами мозга (эндопептидазы, аминопептидазы), из молекулы β -эндорфина образуют активные пептиды с различной биологической активностью: α -эндорфин и дез-тирозин- α -эндорфин образуются при pH = 5,9, а γ -эндорфин и дез-тирозин- γ -эндорфин при pH = 6,7. Сдвиг pH в этих пределах изменяет соотношение образованных из первичного пептида гамма/альфа эндорфинов от 0,29 до 2,9. Таким образом, селективное образование двух типов эндорфинов как функция от pH является одним из механизмов пептидной регуляции адаптивного поведения так как физиологическое действие этих двух типов энкефалинов различное. Дез-тирозин- γ -эндорфин обладает нейролептоподобной активностью, сходной с галоперидолом, а действие α -эндорфинов сопоставимо с фенамином (Kloet, De Wied, 1980). Следовательно, частичная протеолитическая деградация пептида не приводит к исчезновению его биологического действия, а сам процесс протеолиза пептида является одним из базисов пептидной регуляции адаптивного поведения.

В этом аспекте важно и то, что в структуре пептида разные компоненты его молекулы обладают различными физиологическими эффектами. Показано (De Wied, 1980), что циклическая часть молекулы вазопрессина сопряжена с влиянием пептида на процессы консолидации, а линейная — на процессы воспроизведения. По гипотезе Г.Н.Чипенса (1980) фрагменты пептидов, обладающие общим типом строения, могут вызывать сходные лиганд-рецепторные взаимодействия. Высказано предположение, что высвобождение биологически активного пептида может происходить и на мембранах дендритов (Schmitt et al., 1976; Guillemin, 1978). Дендритам придается большое значение в процессах межнейронной коммуникации. Они осуществляют высвобождение и обратный захват нейромедиаторов, многих малых и крупных молекул, нейроактивных аминокислот и, возможно, низкомолекулярных пептидов из экстрацеллюлярной среды и капилляров. Локальные низковольтные мембранные процессы дендритов, вызываемые либо синаптическим притоком, либо химическими (в том числе пептидными), регуляторами оказывают существенное влияние на интранейрональные процессы.

Тиролиберин и обмен моноаминов

Широко известно, что тиролиберин (тиреотропин-рилизинг-гормон, TRF), Glu-His-Pro-NH_2 проявляет активирующее влияние на поведение животных, особенно в случае его угнетения (наркотические вещества, этанол), обладает слабым антидепрессивным эффектом. Эти проявления не связаны с гормональной функцией TRF, так как реализуются в полной мере и у гипофизэктомированных животных. Во многом действие

ТРГ сходно с эффектами фенамина. Тиролиберин повышает локомоторную активность, вызывает поведенческий и ЭЭГ-arousal, потенцирует эффект 1-ДОФА, усиливает стереотипию. Было высказано допущение, что действие ТРГ опосредуется центральными ДА-системами. Фенаминоподобный поведенческий эффект, вызванный внутрибрюшинным введением высоких доз ТРГ (20 мг/кг), развивается почти мгновенно и продолжается около 20 мин. Эти эффекты отличаются от активации поведенческих проявлений, также связанных с ДА-системами, но проявляющимися через несколько часов после периферического введения небольшой дозы ТРГ на фоне предварительного ингибирования МАО (Green, Graham-Smith, 1971; Plotnikoff, Kastin, 1976). На фоне паргилина ТРГ потенцирует поведенческие эффекты 1-ДОФА в дозе 500 мкг/кг внутрибрюшинно, а при внутримозговом введении даже в дозе 1 мкг (Huidobro-Toro et al., 1975). Но несмотря на внешнее сходство фармакологических эффектов фенамина и ТРГ между ними нет полного тождества. Даже большие дозы ТРГ не вызывают типичной для фенамина стереотипии с покусываниями, облизываниями, обнюхиванием при снижении моторики и вертикальной активности (Ervin et al., 1981). ТРГ устраняет седацию, вызванную этанолом, обладает определенной антиконфликтной активностью, извращает гипотермию, вызванную сксотреморином, в то время как фенамин не проявляет активности по этим тестам. Фенамин реализует свое действие посредством пресинаптического высвобождения ДА. Было показано, что *in vitro* ТРГ высвобождает H^3 -ДА из срезов п. *assumbens*, но не из п. *caudatum* (Kervin, Rycock, 1979; Heal, Green, 1979). Это согласуется с данными иммуногистофлуоресцентного метода, выявляющего множество ТРГ-содержащих волокон в вентральной части п. *assumbens*, но не в полосатом теле (Hökfelt et al., 1978). В этой же зоне п. *assumbens* осуществляется максимальное связывание ТРГ.

Поведенческий эффект ТРГ, обусловленный микроинъекциями в зону п. *assumbens*, сходен с таковым при микроинъекции ДА. Предварительное введение ингибитора МАО потенцирует эффекты как ТРГ, так и ДА, а галоперидол (но не феноксibenзамин) или разрушение пресинаптических ДА-терминалей этой зоны (предварительное введение 6-оксидофамина) устраняет поведенческие эффекты микроинъекции ТРГ. Следовательно, поведенческий эффект ТРГ может быть объяснен высвобождением ДА из терминалей п. *assumbens* (Heal, Green, 1979). По нашим данным (Н.А.Бондаренко) ТРГ (внутрибрюшинно) усиливает ипсилатеральные вращения, вызванные фенамином у животных с разрушенными ДА-терминалями хвостатого ядра (табл. 2). На фоне апоморфина ТРГ у таких животных вызывает реверсию контралатеральных ротаций в ипсилатеральные. Достоверных изменений стереотипии ТРГ не вызывает. Микроинъекция ТРГ в стриатум не воспроизводит эффекта, вызываемого ДА. При унилатеральном введении ТРГ в хвостатое ядро не индуцируется ротационное поведение у животных с унилатеральным разрушением ДА-терминалей хвостатого ядра. Поскольку стереотипия связана с ДА-системой полосатого тела, а локомоторная активность с мезолимбической ДА-системой (п. *assumbens septi*) можно заключить, что ТРГ влияет только на последнюю. Детальные исследования с регионарным введением ТРГ в разные зоны мозга (Kalivas, Horita,

Таблица 2. Влияние тиролиберина на ротационное поведение при взаимодействии с катехоламинергическими веществами

Вещества и дозы (мг/кг)	Ротационное поведение (число вращений за 15 мин, $M \pm m$)		Стереотипное поведение
	ипсилатерально	контралатераль- но	
Физраствор	14,6 \pm 5,1	—	
Тиролиберин 0,5	17,9 \pm 2,2	—	
Фенамин 1	44,2 \pm 8,6	—	4,1 \pm 1,2
Фенамин 1 + тиролиберин 0,5	64,9 \pm 14*	—	5,1 \pm 2
Апоморфин 0,5		48,4 \pm 10,0	7,1 \pm 0,8
Апоморфин 0,5 + тиролиберин — 0,5	28,8 \pm 4,8**	6,3 \pm 3,5**	7,4 \pm 2,9

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

1980) и оценкой влияния TRF на длительность пентобарбиталового сна указывают на наиболее вероятную роль септальной зоны в реализации аналептического эффекта TRF. Содержание TRF в n. lateralis septi в 30–50 раз превышает его содержание в других ядрах.

Ряд наблюдений показывает, что TRF при системном введении не изменяет содержания МА мозга (Plotnikoff et al., 1975; Marek, Haubrich, 1977). При определении содержания НА, ДА, 5-ОТ и их метаболитов в мозге мышей не было найдено (Зиле и соавт., 1979) достоверных сдвигов при введении 5 мг/кг TRF (внутрибрюшинно). Однако при более детальном анализе динамики моноаминов в отдельных субстратах мозга выявлены существенные сдвиги. При введении TRF в боковой желудочек мозга в дозе 10 мкг (Telegdy et al., 1979) наблюдалось повышение содержания ДА в гипоталамусе, миндалине, септальной зоне, но некоторое снижение ДА в полосатом теле. Максимальные сдвиги обнаруживались через 10 мин, но и через час уровень ДА не достигал исходных значений. Содержание НА возрастало в гипоталамусе, среднем мозге, септальной зоне, а серотонина — особенно интенсивно в септальной зоне и миндалине. Следует отметить, что TRF потенцирует тремор, вызванный у мышей введением 5-ОТФ (Green, Graham-Smith, 1974; Huidobro-Toro et al., 1975). При длительном введении TRF в течение 10 сут отмечено повышение уровня ДА в гипоталамусе (на 23%) и полосатом теле, увеличение содержания метаболитов, указывающих на повышение оборота ДА и НА. Активность тирозингидроксилазы (ТГ) существенно (на 125%) возрастала (Rastogi et al., 1980). Следовательно, TRF вызывает активацию КА-нейронов мозга, приводящую к усиленному синтезу и высвобождению НА и ДА. Первично эффект, видимо, ориентирован на ДА-систему, так как уровень НА в ходе 10-дневного введения TRF не изменялся, не было отмечено также сдвигов величины обратного захвата H^3 -НА синапсомозгового ствола. TRF усиливает снижение содержания НА и ДА, вызванное α -MT — ингибитором ТГ (Lotti et al., 1980).

Аналептический эффект TRГ антагонизируется ГАМК-позитивными веществами. Это может быть обусловлено подавлением высвобождения ДА, что указывает на наличие ГАМК-ергического звена в реализации поведенческой активации, вызываемой TRГ (Cott, Engel, 1977). В свою очередь TRГ в мозговых субстратах регулируется через ДА и ГАМК-ергические системы. α -Амфетамин снижает содержание TRГ в полосатом теле на 50%, однако, не изменяет содержание пептида в гипоталамусе, септальной области, мозговом стволе (Spindle et al., 1981). Предварительное введение галоперидола или α -МТ, а также разрушение ДА-терминалей (6-оксидофамин) предупреждает этот эффект амфетамина. Поскольку разрушение *s. nigra* само по себе не изменяет уровня TRГ, а частичная деафферентация (гемисекция мозга) повышает его содержание в 2-3 раза, можно допустить, что ведущим фактором является не нарушение нигростриатного ДА-притока, а снижение интернейронального торможения, реализуемого через ГАМК-ергические нейроны, что и приводит к угнетению высвобождения TRГ.

Механизм, посредством которого TRГ проявляет свое фармакологическое (экстрагипоталамическое) действие, недостаточно ясен. Период полужизни TRГ в плазме составляет около 4 мин, а в ликворе (при внутримозговом введении) около 7 мин. В мозговой ткани происходит быстрое дезаминирование TRГ до дезамино-TRГ, период полужизни которого равен 2,5 мин. Продолжительность фармакологического действия TRГ, особенно на фоне ингибции MAO, много больше. В процессе ферментативной деградации с N-конца (отщепление *pyro-Glu*) образуется гистидилпролинамид. Он неустоек и быстро превращается в циклическое соединение гистидилпролиндикетопиперазин (*cyclo-His-Pro*). При внутрибрюшинном введении этот метаболит не обладает антинаркотическим эффектом, однако при интрадеребральном введении он проявляет антинаркотическое действие, устраняет гипотермию, вызванную тетрагидроканабинолом или кетамином (Bhargava, 1981). Таким образом, не только TRГ, но и его метаболит (*cyclo-His-Pro*) модулирует состояние центральных нейронов.

Субстанция Р и моноаминергические процессы

Взаимодействие субстанции Р (СП) с катехоламинергическими системами наиболее полно изучено в отношении нигростриатной системы. Целый ряд фактов позволяет утверждать, что СП выступает как модулятор ДА-ергических нейрональных цепей в нигростриатной системе. В наивысшей концентрации в ЦНС млекопитающих СП обнаруживается в *s. nigra*, где пептид локализуется в аксонных терминалях стриато-нигрального тракта (Morz et al., 1977; Ljungdahl et al., 1978), являющегося каналом обратной связи в регуляции нигростриатных взаимодействий. Активация (K^+ -деполяризация) области ростральных отделов хвостатого ядра, где располагаются клеточные тела этих проекций, способствует высвобождению СП из терминалей (Jessel, 1978). Локальная аппликация СП на зону *s. nigra* активирует высвобождение ДА из терминалей хвостатого ядра (Michelot

et al., 1979), повышает метаболизм ДА в полосатом теле (Waldmeier et al., 1978), вызывает дозозависимое вращательное поведение и повышает в стереотипном поведении крыс число вертикальных стоек и обнюхиваний (т.е. фенаминоподобных проявлений стереотипии). То и другое исчезает после разрушения ДА-терминалей хвостатого ядра 6-оксидофампином (Kelly, Iversen, 1979). Введение антисыворотки к СП угнетает высвобождение ДА из терминалей хвостатого ядра. Следовательно, воздействия, распространяющиеся посредством СП-ергических терминалей *s. nigra*, приводит к усилению разрядов нигростриатных ДА-нейронов. В этом отношении СП, по сравнению с ГАМК, имеет противоположную функцию в системе обратных связей нигро-стриатной ДА-системы: ГАМК оказывает тормозное, а СП активирующее влияние. Активация ДА-рецепторов апоморфином или их блокада галоперидолом индуцирует специфические дозозависимые и обратимые изменения уровня СП в *s. nigra* (Hanson et al., 1981). Субстанция Р *in vitro* усиливает высвобождение ДА (и 5-ОТ) из срезов мозга (в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ М) и синапсом (10^{-9} – 10^{-7} М) области *s. nigra*, но не *s. striatum* (Sibergeld, Walters, 1979). На обратный захват НА синапсосомы гипоталамуса *in vitro* СП оказывает угнетающий эффект, но при внутривенном введении СП и последующей оценке захвата НА срезами гипоталамуса отмечается значительная активация аккумуляции КА (Oehme et al., 1980).

На уровне спинного мозга отмечено взаимодействие СП с серотонином. 5-ОТ снижает чувствительность клеток заднего рога на локальную аппликацию СП или периферический ноцицептивный стимул, не изменяя возбудимости клеток и не изменяя пресинаптического высвобождения СП. Это происходит вследствие взаимодействия серотонина либо с рецептором для СП, либо с внутриклеточным механизмом, сопряженным с комплексом агонист-рецептор (Davies, Roberts, 1981). Показано сосуществование СП и серотонина в терминалях бульбоспинальных нейронов, где СП проявляет пресинаптический антагонистический эффект в отношении серотониновых ауторецепторов (Mitchell, Fleetwood-Walker, 1981). В области ядра солитарного тракта, где СП выступает как медиатор первичных афферентных волокон (Gillis et al., 1980) и СП-содержащие терминали выявляются иммуногистохимическим методом, осуществляется пресинаптическая регуляция высвобождения СП посредством мет-энкефалинергических и НА-ергических терминалей (Ljungdahl et al., 1978; Pickel et al., 1979).

Катехоламинергические механизмы действия меланостатина.

Меланостатин (меланоингибирующий фактор – MIF-1, МИФ, Pго-Leu-Gly-NH₂) по своему физиологическому экстрагипоталамическому действию во многом сходен с ТРГ. Он потенцирует стереотипно, вызванную 1-ДОФА, противодействует эффектам оксотремория. Это проявляется как у intactных, так и гипофизэктомированных мышей (Plotnikoff et al., 1971; Kastin et al., 1972), устраняет тремор, вызванный у кроликов гармином (Huidobro-Toro et al., 1975). При внутривенном введении МИФ мышам на фоне ингибиции МАО (паралин)

потенцирование действия 1-ДОФА проявляется в дозе 0,1 мкг/кг, а при внутрижелудочковом введении даже в дозе 0,1 мкг (Huidobro-Toro et al., 1975). МИФ не потенцировал поведенческих проявлений 5-ОТ. В отличие от ТРГ, МИФ не проявляет антагонизма в отношении седативного или противосудорожного действия пентобарбитала (Nemecoff et al., 1975). Он активизирует ЭЭГ и вызывает стереотипию феяминового типа, не изменяя спонтанной моторной активности. Однако в более высоких дозах (10-50 мкг/кг) моторная активность животных снижается, хотя проявления стереотипии прогрессивно нарастают (North et al., 1973).

Весьма интересно, что аминокислотная последовательность Pro-Leu-Gly-NH₂ является С-концевым фрагментом окситоцина. Согласно ряду данных (Kloet, De Wied, 1980) концевая трипептидная линейная часть молекулы окситоцина (равно как и линейный С-концевой фрагмент вазопрессина) более эффективна, чем циклическая часть молекулы, в предотвращении ретроградной амнезии. Это позволило предположить функциональную роль трипептида Pro-Leu-Gly-NH₂ в механизмах воспроизведения памятных следов. Образование С-концевого трипептида окситоцина, видимо, может осуществляться in vivo. При инкубации ¹⁴С-глицинамид-окситоцина с субклеточной фракцией гипоталамуса крыс обнаружены небольшие количества свободного Pro-Leu-Gly-NH₂ (Celis et al., 1971; Walter et al., 1973). Однако радиоиммунологический анализ не выявил наличие этого пептида в мозговой ткани (Manberg et al., 1982). В процессе биотрансформации вазопрессина и окситоцина образуется также С-концевой дипептид Leu-Gly-NH₂. Допускается, что функциональная деградация нейрогипофизарных гормонов может развиваться непосредственно в зоне предполагаемых мест их экстрагипоталамического действия (Kloet, De Wied, 1980).

Фармакологический спектр действия МИФ ассоциируется с его дофаминиметическим эффектом. Хотя тотальное содержание НА, ДА, 5-ОТ и их метаболитов в мозге мышей при введении МИФ (5 мкг/кг внутрибрюшинно) достоверно не изменяется (Зиле и соавт., 1979), при внутрижелудочковом введении (крысы) МИФ (50-100 мкг) повышает уровень ДА и ГВК (Клуша и соавт., 1979; см. также настоящий сборник). На фоне угнетения ТГ (предварительное введение α-МТ) МИФ ускоряет исчезновение ДА из нигростриатного комплекса (Versteeg et al., 1978), что указывает на ускорение turnover последнего. Отмечено дозозависимое повышение синтеза ДА в полосатом теле при введении МИФ (Friedman et al., 1974).

Нейрохимический механизм действия МИФ требует дополнительного анализа, так как данные разных авторов не совпадают. МИФ потенцирует поведенческие эффекты, вызванные апоморфином (Plotnikoff et al., 1974), но не вызывает феяминоподобной стереотипии у крыс (Cox et al., 1976). По нашим данным (Н.А.Бондаренко) на крысах с унилатеральной деструкцией ДА-терминалей (введение 6-оксидофамина в головку хвостатого ядра) МИФ вызывает дозозависимое усиление ипсилатеральных ротаций, вызванных феямином (табл. 3). Это свидетельствует об усиленном высвобождении ДА на уровне мезолимбической системы (п. assumbens). В то же время феяминовая

Таблица 1
Влияние
(мг/кг)
Физраствор
Меланостатин
Феямин
Феямин
+ меланостатин
Феямин
+ меланостатин
Феямин
+ меланостатин
Апоморфин
Апоморфин
+ меланостатин
Апоморфин
+ меланостатин
Апоморфин
+ меланостатин
* p < 0,05
стереотипия пр
внутрибрюшинно
ослабляет. На
МИФ в дозах
мое стереотип
атной системы
(15 мг/кг) п
появляются ш
ческий эффект
и морфина, чт
только в обле
Mishra, 1979
ослабляет ка
подкожно), т
лептогенный
не проявляет
genius et al
устраняет

Таблица 3. Влияние меланоингибирующего гормона (МИФ, меланостатин) на ротационное поведение при взаимодействии с катехоламинергическими веществами

Вещества и дозы (мг/кг)	Ротационное поведение (число вращений за 15 мин)		Стереотипное поведение (число актов за (15 мин)	
	ипсилате- рально	контрала- терально	движения головы	вертикальные стойки
Физраствор	7,2±3,1	-	-	-
Меланостатин 10	11,3±2,2	-	-	2,3±0,8
Фенамин 1	19,6±4,8	-	-	6,7±1,9
Фенамин 1	-	-	-	-
+ меланостатин 5	28,3±3,6*	-	12,0±4,8**	26,6±7,9**
Фенамин 1	-	-	-	-
+ меланостатин 10	42,4±6,1**	-	7,4±2,0**	15,3±5,0**
Фенамин 1	-	-	-	-
+ меланостатин 15	71,4±10,3**	-	-	6,2±2,8
Апоморфин 0,5	-	29,3±5,0	-	38,2±10,1
Апоморфин 0,5	-	-	-	-
+ меланостатин 5	-	22,9±7,1	2,4±2,0**	44,8±11,6
Апоморфин 0,5	-	-	-	-
+ меланостатин 10	-	23,8±6,5	-	62,5±11,9*
Апоморфин 0,5	-	-	-	-
+ меланостатин 15	2,6±0,9**	19,1±2,8**	-	88,7±16,4**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

стереотипия претерпевает двухфазные сдвиги: в дозах 5-10 мг/кг внутрибрюшинно МИФ ее усиливает, а в больших дозах (15 мг/кг) - ослабляет. На контралатеральные ротации, вызванные апоморфином, МИФ в дозах 5-10 мг/кг не оказывает влияния, но дофаминозависимое стереотипное поведение, связанное преимущественно с nigro-striatной системой, при этом усиливается. От большей дозы МИФ (15 мг/кг) происходит частичная инверсия апоморфиновых ротаций: появляются ипсилатеральные вращения. МИФ проявляет антикаталептический эффект как в случае введения больших доз нейролептиков, так и морфина, что свидетельствует о его воздействии на DA-систему не только в области striatum, но и в мезолимбических структурах (Chiu, Mishra, 1979). Если при однократном введении МИФ (10-20 мг/кг) ослабляет каталепсию, обусловленную введением морфина (30 мг/кг подкожно), то после 10-дневного его введения (по 10 мг/кг) каталептический эффект морфина полностью предупреждается. Однако МИФ не проявляет взаимодействия с опиатными рецепторами in vitro (Tegenius et al., 1975). Повторные введения МИФ более эффективно устраняют также поведенческие проявления депрессии, вызванной гало-

перидолом у кошек (Вальдман и соавт., 1980). Характерно, что МИФ не всегда проявляет дозозависимый эффект. Более высокие дозы не эффективны как в предупреждении морфиновой каталепсии и оксотремориновых судорог, так и в отношении потенцирования 1-ДОФА. Антикаталептогенный эффект галоперидола у мышей МИФ (100 мг/кг подкожно) устраняет только в определенном временном интервале, при введении не более чем за 10 мин до или после введения галоперидола (Turnbull, Wheller, 1980).

Влияние холецистокинина, гастрин и их фрагментов на моноамины мозга

Иммуногистохимическим методом в ЦНС позвоночных был выявлен гастриноподобный пептид. Его субклеточная локализация в гомогенатах коры больших полушарий иммунологически выявляется в P_2 -фракции, откуда он высвобождается под воздействием K^+ -деполяризации в присутствии ионов Ca^{++} (Pinget et al., 1979). Гастрин как линейный полипептид, содержащий 17 аминокислот (G-17), существует в сульфатированной и несulfатированной формах. В кишечнике идентифицируются и другие формы гастрин (G-34, G-14). Однако общее содержание гастриноподобных пептидов в мозговых структурах невысоко (по сравнению с кишечником), более отчетливо G-17 выявляется в гипоталамусе. Прецизионный иммунологический анализ в сочетании с фракционированием показал, что гастриноподобный пептид, выделяемый из мозга, относится к холецистокининам (холецистокинин — пептид, состоящий из 33 аминокислот, ССК-33), являясь С-концевым октапептидом (ССК-8) (Dockray, 1976). Наибольшее содержание ССК-8 выявляется в коре головного мозга, дорсолатеральном гипоталамусе, периакведуктальном сером веществе. Не найдено ССК-8 в базальных ганглиях, мозжечке, продолговатом и спинном мозге (Innis et al., 1979). ССК-8 присутствует в мозговой ткани в полностью сульфатированной форме. Функциональная роль ССК-8 еще недостаточно выяснена. Допускается, что этот пептид может действовать как синаптический посредник (трансмисмиттер) или как модулятор (Renaud, Padjen, 1978; Höckfelt et al., 1980). Он вызывает ряд поведенческих и вегетативных проявлений (Loonen, Soudjin, 1979).

ССК-8 проявляет существенное влияние на баланс МА мозга (Telegdy et al., 1979; Feketa et al., 1981). При введении в желудок мозга ССК-8 вызывает довольно специфичные изменения содержания ДА, НА и 5-ОТ в локальных (дискретных) зонах мозга, проявляющиеся различно в зависимости от дозы и времени после введения. Содержание ДА и НА в гипоталамусе и среднем мозге снижалось, а 5-ОТ — нарастало. Двухфазное воздействие ССК-8 на содержание НА отмечено в миндалине. В полосатом теле содержание ДА и 5-ОТ снижалось, а НА сперва снижалось, а затем нарастало. Для воздействия на НА мозга молекула ССК должна сохранять тирозин-сульфат-эфирную (SE) группировку. ССК-1-8 SE, ССК-2-4 SE, ССК-2-3 SE проявляли равноценное воздействие на баланс МА, в то время как несulfатированные (NS) аналоги (ССК-1-8 NS, ССК-1-4 NS,

ССК-5-8 NS) не были активны. Введение антисыворотки к ССК-4 (гастрину), нейтрализующей физиологическую активность ССК мозга, приводит к прямо противоположным сдвигам содержания МА: уровень ДА и НА снижался в гипоталамусе, среднем мозге, миндалине, септальной зоне, но повышался в полосатом теле. Содержание 5-ОТ в большинстве исследованных зон мозга (кроме стриатума) не изменялся. Это доказывает физиологическую роль ССК как модулятора обмена МА в различных структурах мозга (Fekete et al., 1981).

При сопоставлении действия гастрин-17 и его С-терминальных фрагментов (ди-, три-, тетра-, пента- и гексапептидов) на уровень ДА, НА, 5-ОТ при введении в желудочки мозга получены данные (Telegdy, 1980), свидетельствующие о наличии собственного спектра активности у каждого из пептидов. Гастрин (10 мкг) повышал уровень ДА в гипоталамусе, среднем мозге, септальной зоне и снижал в полосатом теле. Все его фрагменты на содержание ДА в тех же структурах оказывали аналогичное действие, но снижали содержание ДА в миндалине. Гастрин снижал содержание НА в гипоталамусе, среднем мозге, миндалине, септальной зоне, однако все фрагменты проявляли противоположное воздействие. Более сложные сдвиги обнаружены в отношении 5-ОТ. Гастрин проявлял незначительное и двухфазное (первоначальное повышение и последующее снижение) влияния на уровень 5-ОТ в гипоталамусе. Гексапептид в той же зоне снижал содержание серотонина, но повышал его в миндалине. Пентапептид повышал уровень серотонина во всех структурах, кроме стриатума. Тетрапептид снижал уровень 5-ОТ в миндалине и среднем мозге. Трипептид повышал уровень серотонина в гипоталамусе и снижал в других зонах, дипептид — повышал в гипоталамусе и септальной зоне, но снижал в среднем мозге. Уровень кортикостероидов в плазме повышался как от гастрин-17, так и от его фрагментов. При внутрибрюшинном введении С-концевого три- и пентапептида гастрин (Met-Asp-Phe-NH₂ или МАФ, Boc-β-Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH₂) не обнаружено достоверных изменений содержания МА и их метаболитов в гомогенатах целого мозга. При интравентрикулярном введении пентапептид существенно снижал содержание НА и ДА и повышал содержание ГВК, повышал содержание 5-ОТ, без сдвигов 5-ОИУК. Трипептид почти не изменял содержания НА, но снижал содержание ДА и ГВК и повышал содержание 5-ОТ и 5-ОИУК (Клуша и соавт., 1979).

На модели ротационного поведения (крысы с унилатеральным повреждением ДА-терминалей) С-концевой трипептид гастрин при внутрибрюшинном введении (10 мг/кг) не вызывает ни ротаций, ни стереотипного поведения (табл. 4). Однако на фоне предварительного введения фенамина этот трипептид дозозависимо (от 1 до 15 мг/кг) усиливает ипсилатеральные ротации и ДА-зависимую стереотипию (вертикальная активность, обнюхивания). Контралатеральные вращения и стереотипию, вызванные апоморфином, трипептид ослаблял, но индуцировал серотониноподобные движения головой (head-weaving). Эти факты указывают на усиленное высвобождение ДА из пресинаптических терминалей мезолимбической и нигростриатной системы под воздействием С-концевого трипептида гастрин и на отсутствие прямого ДА-позитивного эффекта на постсинаптические ДА-рецепторы.

Таблица 4. Влияние С-концевого трипептида гастрина (МАФ) на ротационное поведение при взаимодействии с катехоламинергическими веществами

Вещества и дозы (мг/кг)	Ротационное поведение (число вращений за 15 мин)		Стереотипное поведение (число актов за 15 мин)	
	ипсилате- кальцо	контрала- терально	движения головы	вертикальные стойки
Физраствор	7,2±3,1			
МАФ 10	8,7±3,4			
Фенамин 1	19,6±4,8	-	-	6,7±1,9
Фенамин + МАФ 5	26,4±3,3*	-	16,7±5,4**	2,1±0,6**
Фенамин + МАФ 10	34,0±5,0**	-	6,2±3,1**	17,7±6,0*
Фенамин + МАФ 15	54,3±8,2**	-	-	28,1±7,9**
Апоморфин 0,5	-	29,3±5,0	-	38,2±10,1
Апоморфин 0,5 + МАФ 5	-	18,5±4,2*	19,7±7,0**	4,2±1,7**
Апоморфин 0,5 + МАФ 10	-	21,3±3,7*	32,6±5,8**	-
Апоморфин 0,5 + МАФ 15	-	13,2±4,8**	11,0±3,3**	17,5±6,1**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Катехоламинергические механизмы центрального действия тетрапептида тафтсина

Тафтсин (Thr-Lys-Pro-Arg) является природным стимулятором фагоцитоза и иммуностимулятором. Аминокислотная последовательность тетрапептида тафтсина включена в макромолекулу (фрагмент 289-292) C_{II}2 домена тяжелой цепи иммуноглобулина. Высвобождение тафтсина осуществляется под воздействием специфических ферментов. Радиоиммунологический метод выявляет наличие тафтсина в циркулирующей крови. Пока неизвестно, содержится ли (или высвобождается) подобный тетрапептид в мозговой ткани. Однако нами (Вальдман и соавт., 1981, 1982) и рядом других исследователей (Лаврецькая и соавт., 1981) выявлено стимулирующее действие этого тетрапептида, а также некоторых его аналогов на центральную нервную систему. Результаты поведенческого и нейрохимического анализа свидетельст-

вуют о реализации центрального стимулирующего действия тафтсина через посредство КА-системы мозга.

При введении тафтсина (10 мкг) в мозговые желудочки крыс не было обнаружено достоверных сдвигов в содержании биогенных моноаминов и их метаболитов (Клуша и соавт., 1979), отмечена некоторая тенденция к нарастанию ГВК. Возможно оценка МА во всей массе маскирует сдвиги в отдельных более дискретных структурах мозга. На модели ротационного поведения у крыс с унилатеральным повреждением пресинаптических ДА-терминалей стриатума (предварительное введение 6-оксидофамина) тафтсин (100 мкг/кг, внутрибрюшинно) активирует вращение в сторону повреждения, что, видимо, связано с высвобождением ДА из мезолимбических ДА-нейронов (*n. accumbens septi*). Однако он ослабляет ротации, вызванные фенамином, одновременно усиливая проявления фенаминовой стереотипии (табл. 5). Контралатеральные ротации, вызванные апоморфином, тафтсин достоверно не изменяет (имеется тенденция к незначительному усилению). Он мало влияет на эффект предварительно введенного галоперидола. Все это указывает на модулирующее влияние тафтсина на ДА-процессы мезолимбической (ипсилатеральные ротации) и нигростриатной (стереотипия) систем. Поскольку даже в условиях гиперчувствительности постсинаптических ДА-рецепторов сам тафтсин не вызывает контралатеральных вращений и не проявляет активирующего воздействия на эффекты апоморфина, следует заключить, что этот пептид не оказывает четкого воздействия на постсинаптические ДА-рецепторы. Дополнительную информацию о характере воздействия тафтсина на ДА-механизмы дает оценка его влияния на поведенческие проявления стереотипии и агрессивности. Известно, что стереотипное поведение более тесно связано с активацией нигростриатных ДА-нейронов. Тафтсин потенцирует фенаминовую стереотипию (обнюхивания, вертикальные стойки) и удлиняет ее продолжительность. Эффект аналогичен увеличению дозы фенамина. При этом, как и в случае введения большой дозы фенамина, повышение стереотипии не сопровождается активацией моторики, напротив, число ипсилатеральных вращений уменьшается. Все это позволяет ориентировать действие пептида также и на ДА-системы стриатума, с которым связана индукция стереотипии.

Доказательством воздействия тафтсина на центральные КА-системы и проникновения пептида через гематоэнцефалический барьер является изменение активности тирозингидроксилазы (ТГ) после внутрибрюшинного введения тафтсина (500 мкг/кг). Через 10 мин после введения пептида активность ТГ в грубой митохондриальной фракции гипоталамуса и, особенно стриатума, нарастала (табл. 6). Эти изменения отражают быстро развивающиеся адаптивные (кинетические) перестройки лимитирующего фермента биосинтеза КА. Анализ этих фактов затруднен тем, что изменение ТГ-азной активности полосатого тела может являться следствием либо пресинаптической активации ДА-рецепторов (непосредственно или за счет изменения высвобождения или обратного захвата ДА), либо усиления ингибирующего нигростриатного влияния, ориентированного на полосатое тело (непосредственно или через серотонинергические механизмы).

Таблица 5. Влияние тафтсина на ротационное поведение при взаимодействии с катехоламинергическими веществами

Вещество и доза (мг/кг)		Ротационное поведение (число вращения за 15 мин, $M \pm m$)		Стереотипное поведение
		ипсилатераль- но	контралате- рально	
Физраствор		$7,2 \pm 3,1$	-	-
Тафтсин	0,2	$13,1 \pm 2,0^*$	-	$0,2 \pm 0,4^{**}$
Фенамин	1	$44,2 \pm 8,6$	-	$4,1 \pm 1,2$
Фенамин + тафтсин	1 0,2	$27,4 \pm 5,3^*$	-	$7,1 \pm 2,8^*$
Апоморфин	0,5	-	$48,4 \pm 6,1$	$7,1 \pm 1,8$
Апоморфин + тафтсин	0,5 0,2	-	$58,3 \pm 9,4$	$6,0 \pm 3,1$
Галоперидол	1	-	-	-
Галоперидол + тафтсин	0,2	$3,0 \pm 0,9^{**}$	-	-

Крысы линии Вистар. За 24 ч микроинъекция 16 мкг 6-оксидофамина в 4 мкл физиологического раствора в правую головку хвостатого ядра. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Таблица 6. Скорость тирозингидроксилазной реакции в мозге крыс после введения тафтсина

Вариант опыта	Скорость реакции мкмоль/мг белка/мин, $M \pm m$	
	гипоталамус	стриатум
Контроль	$16,0 \pm 1,0$	$33,3 \pm 2,8$
Тафтсин, 10 мин	$25,0 \pm 6,5$	$87,1 \pm 6,2$
Тафтсин, 20 мин	$44,3 \pm 14,4$	$55,7 \pm 11,1$

Буфер 0,05 М трис-малеат, рН 6,1; 0,11 мМ тирозин; 0,17 мМ, диметил-тетрагидроптерин; $t - 30^\circ\text{C}$.

Таблица 7. Содержание дофамина в полосатом теле и уменьшение turnover rate ДА при введении α -метил-тирозина (МТ) на фоне тафтсина

Вещество	n	Дофамин			Turnover rate		
		мкг/кг свежей ткани	% к конт-ролю	% к группе с α -МТ	мкг/г/мин ⁻¹	%	уменьшение, %
Контроль	8	6,58	100				
α -МТ	8	1,74		100	0,01269	100	
Тафтсин	4	7,35	111,7				
Тафтсин + α -МТ	6	5,67		325,8	0,00158	12,5	87,7

Тафтсин - 300 мкг/кг, в/б; α -МТ - 200 мг/кг в/б через 30 мин после введения тафтсина. ДА определяли через 120 мин после введения α -МТ и через 150 мин после введения пептидов.

$$\text{Turnover rate ДА} = K \frac{DA_0}{DA_t} \quad \begin{array}{l} \cdot \text{ - содержание ДА в контроле} \\ \rangle \text{ - через 120 мин после } \alpha\text{-МТ} \end{array}$$

При непосредственном взаимодействии тафтсина с очищенной ТГ in vitro отмечается угнетение ТГ-активности в концентрации 10^{-5} и очень резко в концентрации 10^{-4} М. Субстрат (тирозин) защищает ТГ от ингибирующего влияния тафтсина. Фторфеназин, который является аллостерическим регулятором активности ТГ, почти полностью (на 80%) устранял ингибирующий эффект тафтсина. Эти факты свидетельствуют, что взаимодействие пептида с ТГ осуществляется не с активным центром фермента. Возможно, что модулирующее влияние тафтсина на ТГ in vivo осуществляется за счет конформационных изменений самого фермента, либо липидных компонентов мембран, с которыми он связан. Весьма существенно, что несмотря на непродолжительное влияние тафтсина на поведенческие проявления (около 20 мин), взаимодействие тафтсина с ТГ на довольно длительное время изменяет исходный уровень оборота ДА (turnover rate). При введении тафтсина даже за 2 ч до α -метилтирозина (ингибитор ТГ) не наблюдается обычного для α -МТ снижения уровня ДА в полосатом теле (табл. 7), оборот ДА снижается (Желязков и соавт., 1981). Требуется дальнейшего анализа механизма этого эффекта с выяснением того, защищает тафтсин ТГ от ингибирующего влияния α -МТ или же изменяются условия утилизации (turnover) ДА.

Замена Arg на D-Arg в молекуле тафтсина существенно изменяет спектр действия пептида. В отличие от тафтсина, повышающего эмоциональную реактивность и двигательную активность, особенно на фоне седации, вызванной ДТК, D-Arg-тафтсин снижает двигательную и эмоциональную реактивность и агрессивные проявления. Тафтсин не проявляет активирующего влияния на постсинаптические ДА-рецепторы,

так как даже в условиях их гиперчувствительности (дегенерация ДА-терминалей) он не вызывает контралатеральных вращений. В действии D-Arg-тафтсина имеется постсинаптический ДА-компонент (индукция контралатеральных вращений). В то же время он действует и по типу антагониста, так как устраняет или ослабляет эффекты апоморфина (контралатеральные вращения, стереотипия, агрессивность), не устраняет эффект галоперидола, ослабляет ипсилатеральные ротации, вызванные фенамином (либератор ДА), активирует ТГ стриатума. Возможно, D-Arg-тафтсин проявляет ДА негативное воздействие только на п. ассимбелз, что и приводит к уменьшению двигательной активности и числа ротаций (вызванных как фенамином, так и апоморфином). Эффект тафтсина может быть объяснен его пресинаптическим влиянием, преимущественно на ДА-элементы мезолимбической системы, но не нигростриатной, так как он не индуцирует стереотипию.

ФРАГМЕНТ
ЦЕНТ

В.Е.К

Современные
зывают участие
кл. Большинство
длятора и регул
наптическую мем
нервных путей и
тиды в синаптической
только к нейром
1978; Hökfelt e
ния в одних и т
ких нейромедиат
нального пептид
ротонина - Cha
рибосомальный
ных неактивных
аксону прогорм
лы нейропептид
чие таких пред
нов, полиберин
нов и даже для
последовательн
субстратах, на
что меланостат
стью совпадает
окситоцина, мо
кулы окситоци
зуются и высе
гом зависят о
1977). Поско
не обнаружен,
горм
ст.

О
тид
ных
введен
ся от т
отношени

ФРАГМЕНТЫ ПЕПТИДНЫХ ГОРМОНОВ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ЦЕНТРАЛЬНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ФАКТОРЫ

В.Е.Клуша, Р.К.Муценице, Ш.В.Свирскис

Современные нейробиологические исследования неопровержимо доказывают участие пептидных гормонов в регуляции функций нервной клетки. Большинство из них способно облегчать высвобождение нейромедиатора и регулировать продолжительность его воздействия на постсинаптическую мембрану (Wuttke, 1979). Наличие пептидергических нервных путей и нейронов, которые продуцируют и высвобождают пептиды в синаптическую щель, позволяет относить нейропептиды не только к нейромодуляторам, но и к нейромедиаторам (Barghas et al., 1978; Hökfelt et al., 1980). Получены свидетельства существования в одних и тех же секретирующих нейронах пептидов и классических нейромедиаторов (общая локализация ацетилхолина и вазоинтестинального пептида — Hökfelt et al., 1980; субстанции Р (СП) и серотонина — Chan-Palay et al., 1978). Для многих пептидов доказан рибосомальный путь их биосинтеза в клетке в виде высокомолекулярных неактивных предшественников (прогормонов). При прохождении по аксону прогормон ферментативно расщепляется с образованием молекулы нейропептида, которая высвобождается из нервной терминали. Наличие таких предшественников показано для АКТТ, эндорфинов, энкефалинов, полиберина, соматостатина, вазопрессина, окситоцина, нейрофизинов и даже для такой короткой молекулы как ТРГ. Аминокислотная последовательность ТРГ встречается также и в других биологических субстратах, например в карбоксипептидазе А. Есть основание считать, что меланостатин (или МИФ), химическая структура которого полностью совпадает с аминокислотной последовательностью 7-9 молекулы окситоцина, может образоваться как продукт расщепления полной молекулы окситоцина (Celis, 1971). Предполагается, что пептиды образуются и высвобождаются непрерывно и запуск их в действие во многом зависит от состояния биологической системы (Sandman et al., 1977). Поскольку процесс аксонального обратного захвата пептидов не обнаружен, считается, что они инактивируются пептидазами. Таким образом, гормональный гомеостаз регулируется определенными факторами: скоростью биосинтеза и расщепления прогормона, скоростью секреции и высвобождения и дальнейшей деградации гормона. В этой связи расщепляющим ферментам отводится роль регуляторов (Griffiths et al., 1979). Существующие данные о протеолитическом расщеплении молекул пептидных гормонов *in vitro* позволяют оценить активность разных пептидаз определить места приложения их действия в молекуле пептида и характеристики образующихся фрагментов гормона. Однако, еще мало известно об истинной активности церебральных пептидаз *in vivo*, которая может варьировать даже в отдельных клеточных популяциях. Неизвестны также пути биотрансформации экзогенно введенных пептидов, так как скорость их метаболизма может отличаться от таковой, проявляющейся эндогенно (Lajtha et al., 1981). В отношении энкефалинов, например, найдены доказательства, свидетель-

ствующие о том, что они способны расщепляться уже на уровне гематоэнцефалического барьера, так как луминальные рецепторы церебральных микрососудов обладают высокой ферментативной активностью и низким сродством для энкефалинов (Pardridge et al., 1981).

В свете информации о высокой активности расщепляющих ферментных систем, обуславливающих короткий период полураспада нейропептидов (например, 2-18 мин для ТРГ, 4 мин для люлиберина и т.д.); непонятной кажется продолжительность их центральных эффектов. Не исключено, что физиологическое действие пептидных гормонов может быть поддержано продуктами их расщепления. Нами высказано предположение (Клуша и соавт., 1978; Зиле и соавт., 1979), что образование продуктов метаболизма пептидных гормонов, т.е. их фрагментов, не является процессом инактивации гормонов, наоборот, указанные фрагменты играют определенную самостоятельную физиологическую роль в поддержании гомеостатических процессов в организме. Так, установлена роль фрагментов АКТГ и вазопрессина в консолидации процессов обучения и памяти (De Wied, 1980), выявлены антиноцицептивные и антиконвульсантные и др. свойства у фрагментов гастрина (Клуша и соавт., 1979), обнаружен психофармакологический спектр действия у С-концевого трипептида окситоцина или МИФ (Вальдман и соавт., 1980). Во всех вышеупомянутых случаях фармакологические эффекты фрагментов в большей или меньшей степени отличаются от таковых для целых молекул пептидных гормонов.

Исследование С-концевых трипептидов на поведение и моноаминергические процессы

Изучены С-концевые трипептиды разных по своей структуре и функциям пептидных гормонов: люлиберина 8-10 (АПГ) — Arg-Pro-Gly-NH₂, гастрин 13-15 (МАФ) — Met-Asp-Phe-NH₂, субстанции Р 9-11 (ГЛМ) — Gly-Leu-Met-NH₂, окситоцина 7-9 (МИФ) — Pro-Leu-Gly-NH₂. Сравнение проводили с трипептидным гормоном тиролиберин или ТРГ (pGlu-His-Pro-NH₂), также имеющим амидную группу. Такой выбор обоснован рядом аргументов: 1) при изучении возможного влияния N- и С-концевых трипептидов на содержание биогенных моноаминов (БМ) и их метаболитов в мозгу мышей, предварительно получавших галоперидол, было обнаружено, что при внутрибрюшинном введении ряда фрагментов только С-концевые трипептиды, имеющие терминальную амидную группу, способны в значительной мере модулировать угнетенные дофаминергические процессы (Зиле и соавт., 1979). Было высказано предположение, что амидная группа в какой-то мере сближает свойства данных фрагментов с моноаминами; 2) обращает на себя внимание большая повторяемость вышеупомянутых последовательностей. Так структура ГЛМ является общей для тахикининов (физалемин, уперолеин, эледиоизин и др.), МАФ — для церулеиноподобных пептидов (церулеин, холецистокинин, гастрин и др.), АПГ сходен с С-концевым трипептидом вазопрессина (Arg-Pro-Gly-NH₂); 3) С-концевой участок молекулы пептидных гормонов является наиболее важ-

ным для сохранения ее биологической активности. Это установлено в отношении анальгетических свойств β -эндорфина (Deakin et al., 1980), иммунологического и кислотообразующего действия гастрина (Telegdy et al., 1979), а также при изучении структурно-функциональной организации субстанции P (Niedrich et al., 1981).

Внутрибрюшинное введение ТРГ и С-концевых трипептидов окситоцина, люлиберина и гастрина (в дозе 5 мг/кг) интактным мышам не влияет на содержание биогенных моноаминов (БМ) в мозгу и существенно не изменяет поведения животных (Зиле и соавт., 1979). Оценивался эффект пептидов в дозах 0,025–5 мг/кг при внутрибрюшинном введении на мышах массой 18–22 г, у которых предварительно изменялось функциональное состояние БМ мозга: а) на резерпинизированных мышах исследовали влияние пептидов на пониженную резерпином (5 мг/кг до введения пептидов) ректальную температуру, б) на мышах, получавших галоперидол (5 мг/кг через 15 мин после введения пептидов), определяли влияние пептидов на проявление галоперидоловой каталепсии (каталепсию определяли альтернативным методом, результаты выражали в % животных в группе, находящихся в каталептическом состоянии). На максимуме проявления действия пептидов через 30 мин после их введения, животных декапитировали, выделяли мозговую ткань и спектрофлуориметрическим методом (Schellenberger et al., 1971) определяли содержание БМ и их метаболитов: норадреналина (НА), дофамина (ДА) и его метаболита гомованилиновой кислоты (ГВК), серотонина (5-ОТ) и его метаболита 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК).

На резерпинизированных животных все изученные трипептиды в эквивалентных дозах дозозависимо влияли на резерпиновую гипотермию, но одна группа пептидов – ТРГ, МИФ, АПГ – проявляла антигипотермический эффект, сохраняющийся от 1–2 ч (ТРГ и АПГ) до 4 ч (МИФ), а вторая – МАФ и ГЛМ – усиливала резерпиновую гипотермию. Разнонаправленный эффект обнаружен также у животных, предварительно получавших галоперидол. Трипептиды ТРГ, МИФ и АПГ ослабляли каталептический эффект галоперидола. Антагонизм выявлялся в течение 2 ч. Трипептиды ГЛМ и МАФ оказывали противоположный эффект: потенцировали действие галоперидола (рис. 2), особенно в первые 30 мин после введения пептидов; в дальнейшем это действие в течение 2 ч. сохраняет только ГЛМ.

Результаты исследования влияния тех же трипептидов на содержание БМ и их метаболитов в мозгу мышей, получивших резерпин или галоперидол отражены в табл. 1. Анализ этих данных свидетельствует, что основным звеном, на уровне которого проявляется влияние пептидов, является метаболит дофамина – ГВК. У резерпинизированных мышей, у которых значительно понижена концентрация всех БМ и их метаболитов в связи с истощением резервов и нарушением их депонирования, ТРГ, МИФ и АПГ реверсируют эффекты резерпина в отношении ГВК. ТРГ достоверно повышает также пониженное резерпином содержание НА и ДА, АПГ проявляет тенденцию к повышению концентрации ДА. В то же время МАФ и ГЛМ не изменяют эффекты резерпина. Влияние трипептидов на содержание БМ у мышей, получавших галопе-

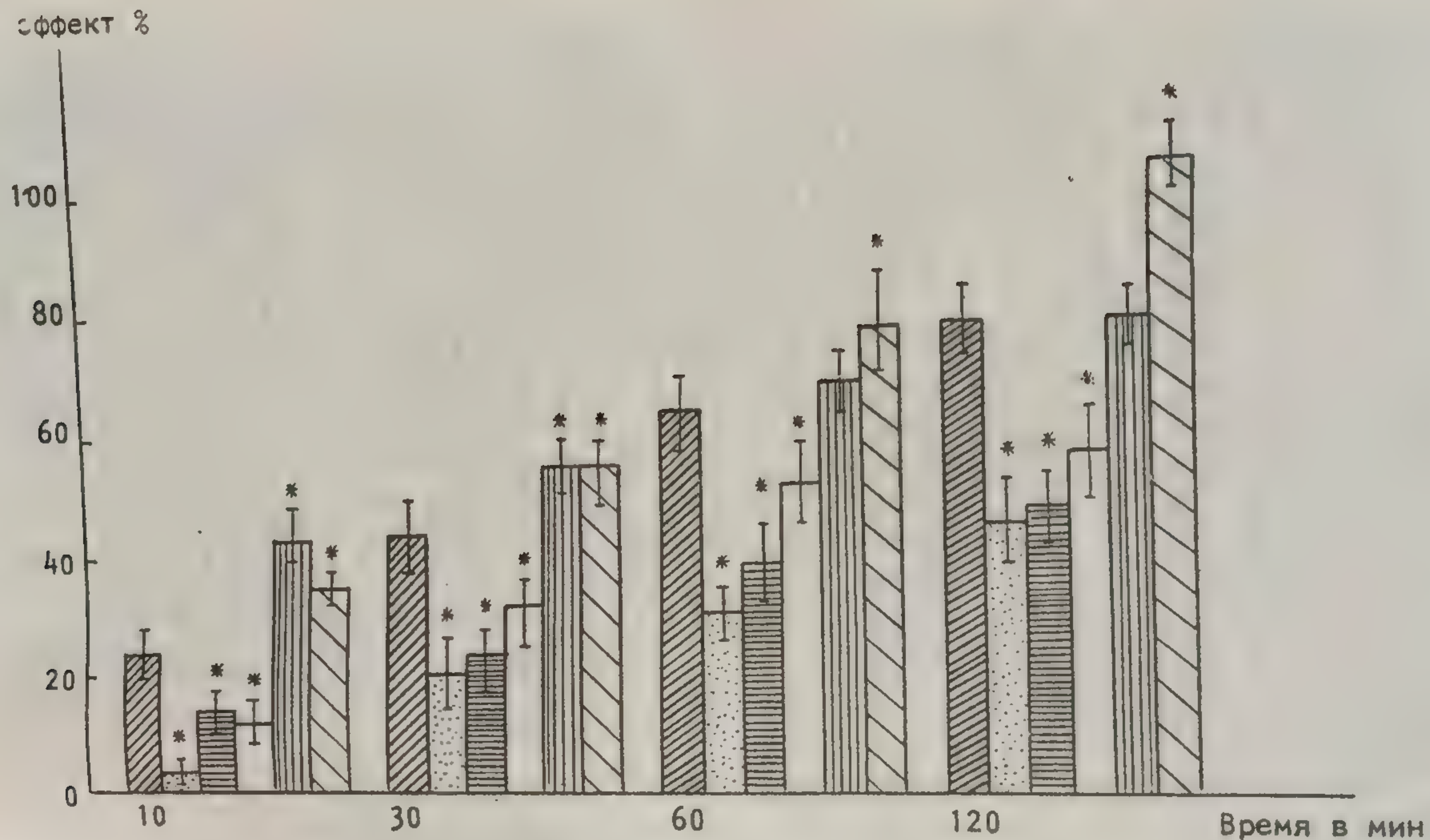

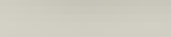
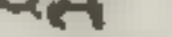





Рис. 2

Влияние пептидов (5 мг/кг. внутрибрюшинно мышам) на каталептический эффект галоперидола (5 мг/кг. внутрибрюшинно). Цифровые обозначения под столбиками:  - физиологический раствор (контроль);  - ТРГ;  - МИФ;  - АПГ;  - МАФ;  - ГЛМ. * $p \leq 0,05$

* $p < 0,05$ по
** $p < 0,05$ по
та. Пептиды вводили
риол, хорошо сор-
тир, МИФ и АП
Ежом. Следовате-
лству как самост-
АП также самост-
гические процес-
шируют процес-
недостаточно та-
ма обеих групп та-
пные остатки для
та соединении т
применения про-
мента емель и о
Поведенческие груп-
условиях * групп
(Классы и отпрыск
и соавт., 1980)

Группа	Наименование	Единица измерения	Значение
Интекстильные	Резерв	5 кг	10
Резерв	Трп	Трп	10
Интро- важные	Миф	Миф	10
	Алп	Алп	10
	Миф	Миф	10
	ГЛМ	ГЛМ	10
Мыши, до- тучащие	Галоперг	Галоперг	10
Галоперг- дол	5 кг/кг	5 кг/кг	10
	ТРГ	ТРГ	10
	МИФ	МИФ	10
	АЛП	АЛП	10
	МАФ	МАФ	10
	ГЛМ	ГЛМ	10

Таблица 1. Влияние трипептидов на содержание биогенных моноаминов (БМ) и их метаболитов в мозгу мышей

Группа животных	Вещество	Содержание, БМ ($M \pm m$, %)				
		НА	ДА	ГВК	5-ОТ	5-ОНУК
Интактные	Физраствор	101 ± 12	100 ± 7	100 ± 15	100 ± 17	100 ± 20
Резерпин- низиро- ванные	Резерпин	60 ± 10*	40 ± 4*	60 ± 7*	50 ± 5*	60 ± 10*
	5 мг/кг					
	ТРГ	70 ± 10*	60 ± 5**	90 ± 12**	55 ± 10*	62 ± 10*
	МИФ	67 ± 5*	43 ± 7*	83 ± 9**	55 ± 15*	61 ± 10*
	АПГ	60 ± 13*	55 ± 8*	88 ± 10**	50 ± 9*	60 ± 12*
	МАФ	60 ± 7*	38 ± 5*	55 ± 5*	48 ± 5*	58 ± 10*
Мыши, по- лучавшие галопери- дол	ГЛМ	63 ± 7*	42 ± 9*	58 ± 6*	56 ± 8*	68 ± 9*
	Галопери- дол,	90 ± 15	50 ± 5*	500 ± 10*	95 ± 13	99 ± 10
	5 мг/кг					
	ТРГ	95 ± 10	55 ± 6*	350 ± 10**	95 ± 10	104 ± 12
	МИФ	95 ± 8	50 ± 7*	400 ± 5**	95 ± 12	100 ± 13
	АПГ	90 ± 12	55 ± 4*	450 ± 5**	90 ± 9	101 ± 10
	МАФ	101 ± 5	53 ± 7	530 ± 10**	90 ± 10	97 ± 9
	ГЛМ	92 ± 4	45 ± 8*	535 ± 8**	92 ± 10	98 ± 9

* $p < 0,05$ по отношению к контролю (физраствор);

** $p < 0,05$ по отношению к эффектам резерпина или галоперидо-
ла. Пептиды вводили в дозе 5 мг/кг внутривенно.

ридол, хорошо согласуется с данными, обнаруженными *in vivo*. Так, ТРГ, МИФ и АПГ ограничивают повышение ГВК, вызванное галопери-
долом. Следовательно, не только ТРГ и МИФ, которые существуют в
мозгу как самостоятельные нейропептиды, но и С-концевой трипептид
АПГ также способен активировать угнетенные нейролептиками ДА-ер-
гические процессы. Трипептиды второй группы – МАФ и ГЛМ потен-
цируют эффект галоперидола. Общее число исследованных пептидов
недостаточно для выявления корреляций между структурой и эффекта-
ми обеих групп трипептидов. Однако обращает на себя внимание на-
личие остатка пролина в химической структуре "активирующей" груп-
пы соединений и отсутствие его в структурах пептидов второй "де-
примирующей" группы, которая в качестве общего структурного эле-
мента имеет остаток метионина.

Поведенческие реакции крыс линии Вистар массой 200-250 г в
условиях "открытого поля" регистрировали на специальных картах
(Клуша и соавт., 1979) в течение 30 мин. Для количественной ха-

Таблица 2. Влияние трипептидов (внутрижелудочно) на содержание биогенных моноаминов (БМ) в мозгу крыс

Вещество	Доза, мкг	Содержание БМ ($M \pm m$, %, $n=12$)				
		НА	ДА	ГВК	5-ОТ	5-ОИУК
Физраствор		100 ± 9	100 ± 8	100 ± 7	100 ± 14	100 ± 13
ТРГ	20	$124 \pm 10^*$	$144 \pm 12^*$	$146 \pm 12^*$	$143 \pm 10^*$	$135 \pm 13^*$
МИФ	50	112 ± 7	$124 \pm 4^*$	$119 \pm 8^*$	95 ± 9	105 ± 7
	100	110 ± 13	$143 \pm 13^*$	135 ± 8	90 ± 7	95 ± 12
АПГ	50	120 ± 13	100 ± 5	93 ± 12	100 ± 13	$127 \pm 9^*$
	100	115 ± 10	114 ± 6	110 ± 9	121 ± 15	$133 \pm 10^*$
МАФ	50	90 ± 7	$72 \pm 4^*$	$85 \pm 3^*$	120 ± 11	105 ± 11
	100	110 ± 6	$63 \pm 7^*$	$78 \pm 4^*$	$140 \pm 10^*$	$128 \pm 8^*$
	200	105 ± 10	$59 \pm 6^*$	$69 \pm 12^*$	$157 \pm 17^*$	$135 \pm 15^*$
ГЛМ	50	103 ± 7	85 ± 16	$132 \pm 7^*$	96 ± 12	103 ± 7
	100	105 ± 10	$87 \pm 5^*$	$140 \pm 10^*$	90 ± 10	$124 \pm 10^*$
	200	112 ± 13	$80 \pm 8^*$	$148 \pm 12^*$	$83 \pm 9^*$	$135 \pm 9^*$

* $p < 0,05$ по отношению к контролю.

характеристики каждой реакции вычисляли статистически достоверные величины. Пептиды вводили внутрижелудочно в дозах 20-200 мкг. После введения таких доз, которые вызывали наиболее выраженную и характерную картину поведенческих реакций, проводили декапитацию (через 20 мин после введения пептидов) и определяли содержание БМ. Установлено, что изученные трипептиды обеих групп по-разному влияют на системы БМ (табл. 2): одни больше изменяют содержание БМ, другие — больше влияют на их кругооборот. В зависимости от дозы превалирует влияние на ту или иную моноаминергическую систему. Однако нельзя не отметить, что и здесь выявляется некоторая противоположность действия обеих групп пептидов: ТРГ, МИФ и АПГ только интенсифицируют ДА или 5-ОТ-ергические процессы; МАФ и ГЛМ выражено подавляют содержания ДА и ГВК (МАФ) или только ДА (ГЛМ). Эти результаты хорошо коррелируют с данными, характеризующими регуляторное действие пептидов при периферическом введении на животных, предварительно получавших резерпин или галоперидол.

Модуляция моноаминергических процессов, очевидно, и определяет проявления поведенческих реакций, вызванных внутрижелудочковым введением трипептидов. Так, ТРГ вызывает двигательную активность, встряхивания типа "мокрой собаки", латеральные движения головой,

груминг. Эти проявления наблюдаются до 30 мин, однако количественно каждая реакция меняется по времени. Например, через 5 мин после введения TRГ в основном превалируют двигательное возбуждение и экзофтальм, через 20 мин на фоне еще более увеличенной двигательной активности появляются встряхивания, груминг, частичный или полный птоз, а через 30 мин после введения в основном интенсифицируются проявления встряхиваний, подергиваний головы, груминга. Нет сомнения, что все эти реакции могут быть связаны с вызванной TRГ интенсификацией всех моноаминергических процессов, причем интенсивность поведенческих реакций резко меняется в зависимости от введенной дозы пептидов. МИФ действует подобно TRГ, однако вызванные им реакции менее выражены. В дозе 50 мкг МИФ вызывает выраженную реакцию груминга, в дозе 100 мкг усиливает также двигательную активность, вызывает чихание, встряхивания. Общей поведенческой реакцией, характерной для TRГ и МИФ, является груминг. Для АПГ характерна дозозависимая треморогенная активность, что, по-видимому, можно объяснить усиленным АПГ-индуцированным метаболизмом 5-ОТ. МАФ обладает депримирующими или седативными свойствами. В дозах 50 и 100 мкг наблюдается двигательная заторможенность, от 200 мкг животное обездвижено, появляется даже каталептогенное состояние, сходное с таковым, вызванным внутрижелудочковым введением галоперидола (10 мкг). Эти данные могут быть интерпретированы как проявление подавляющего влияния МАФ на дофаминовые процессы (табл.2). Нейромодулирующее действие ГЛМ на ДА-ергическую систему напоминает эффект галоперидола. Однако поведение, вызванное ГЛМ, отличается от галоперидола. От малых доз ГЛМ (20 мкг) наблюдается гипоактивация, но в то же время активируется груминг, а от более высоких доз (50-200 мкг) увеличивается двигательная активность, появляются встряхивания.

Взаимодействие между короткими пептидами

Исследовались взаимные регулирующие отношения между двумя условно сгруппированными рядами трипептидов на поведение и содержание БМ в мозгу, оценивали влияние (внутрижелудочковое введение) пептидов на поведение и содержание БМ при их парном сочетании: МАФ+TRГ, ГЛМ+TRГ, МАФ+МИФ, ГЛМ+МАФ, МАФ+ГЛМ, МИФ+TRГ, а также ГЛМ+СП. Вторым пептидом вводили через 10 мин после введения первого. Декапитацию осуществляли через 10 мин после введения второго пептида. Показано, что предварительное введение одного из "депримирующих" пептидов в значительной степени снижает проявления, характерные для второго. Так, МАФ дозозависимо (50, 100 и 200 мкг) антагонизирует почти все поведенческие реакции TRГ (20 мкг), за исключением вертикальной активности и латеральных движений головой. Нейрохимически это выражается как нормализация содержания ДА и ГВК (табл. 3), которые обычно сильно увеличены после введения TRГ. Однако МАФ не изменяет влияния TRГ на серотонинергическую систему. ГЛМ (100 мкг), как и МАФ, действует по-

Таблица 3. Влияние трипептидов, введенных внутривентрикулярно в парном сочетании, на содержание биогенных моноаминов (БМ) мозга крыс

Вещество и доза, мкг	Содержание БМ ($M \pm m$, % $n=12$)				
	НА	ДА	ГВК	5-ОТ	5-ОИУК
Физраствор	100 \pm 9	100 \pm 7	100 \pm 10	100 \pm 14	100 \pm 13
МАФ 200 + ТРГ 20	93 \pm 13	92 \pm 8	90 \pm 20	153 \pm 14	129 \pm 7*
ГЛМ 100 + ТРГ 20	110 \pm 12	97 \pm 13	139 \pm 8*	131 \pm 6*	128 \pm 7*
МАФ 100 + МИФ 100	89 \pm 11	115 \pm 4	114 \pm 10	140 \pm 9*	120 \pm 4*
ГЛМ 100 + МИФ 100	89 \pm 11	124 \pm 8*	150 \pm 6*	119 \pm 16	127 \pm 7*
ГЛМ 100 + МАФ 100	115 \pm 14	86 \pm 4*	125 \pm 10*	109 \pm 10	117 \pm 9

* $p < 0,05$ по отношению к контролю.

добно антагонисту в отношении таких реакций, индуцированных ТРГ, как встряхивания типа "мокрой собаки", подергивания головой, груминг. Однако в отличие от МАФ он увеличивает общую двигательную активность и латеральные движения головой, вызванные ТРГ, не влияя на вертикальную активность. В биохимических тестах обнаруживается нормализация концентраций катехоламинов, однако активация ТРГ серотонинергических процессов и оборота ДА (ГВК) остается неизменной. МАФ и ГЛМ антагонизируют также проявление поведенческих реакций, характерных для другого "активирующего" трипептида - МИФ. Совместное введение МАФ и МИФ приводит к гомеостазу ДА-ергических процессов (табл. 3), наряду с проявлением активации 5-ОТ-процессов, свойственных для МАФ. ГЛМ значительно уменьшает эффект МИФ на содержание ДА, но концентрация ГВК остается повышенной, не изменяются также ГЛМ-вызванное повышение 5-ОИУК. Таким образом, при введении вышеупомянутых сочетаний трипептидов наблюдается нормализация или тенденция к таковой на уровне ДА-ергических процессов.

Определенное регулирующее влияние найдено также при сочетаниях двух пептидов одной и той же группы. Так, сочетанное введение МИФ (100 мкг) + ТРГ (20 мкг) приводит к усилению двигательной активности и потенцированию количества встряхиваний типа "мокрой собаки", но в то же время и к ингибированию латеральных движений головой и груминга. В свою очередь сочетание двух "депримирующих" пептидов ГЛМ и МАФ вызывает некоторое усиление двигательной активности. В этом случае ГЛМ предотвращает повышение концентраций 5-ОТ и 5-ОИУК, которое наблюдается после введения МАФ, т.е. нормализуется функционирование 5-ОТ-ергической системы, а на уровне ДА-ергической системы наблюдается средний эффект обоих пептидов (табл. 3).

Таким образом, при взаимодействии пептидов, действующих противоположно на обмен БМ, проявляется их регуляторное воздействие, на-

направленное на нормализацию функционирования того или иного звена моноаминергических систем. В зависимости от условий они могут доминирующе влиять или на содержание БМ или на их метаболизм. Не исключено, что в организме фрагменты пептидных гормонов наряду с короткими гормонами (ТРГ и др.) образуют гибкую, быстродействующую адаптивную систему, благодаря своеобразному спектру действия каждого компонента. Возможно, что целый ряд "антиэффектов" трипептидов, как антигипотермический, антикаталептогенный, антиноцицептивный у ТРГ, а также антитреморогенные, антиноцицептивные, антиконвульвантные у МАФ (Клуша и соавт., 1979) также являются результатом адаптивных реакций, опосредованных нейромодулирующими и нейрорегулирующими действиями этих пептидов. Возможно, что указанные фрагменты играют регулируемую роль также в отношении действия целых молекул соответствующих пептидных гормонов. Такое предположение основывается на результатах, полученных при совместном внутрижелудочковом введении ГЛМ (С-концевого трипептида субстанции Р, СП) и СП. Если СП в дозах 5, 25 и 50 нМ вызывает увеличение двигательной активности, появление таких поведенческих реакций как встряхивание головой, груминг, а также вегетативных реакций (саливация, периферическая вазодилатация), то его С-концевой трипептид вызывает уменьшение двигательной активности в эквимольных дозах. Предварительное введение ГЛМ более чем на 50% уменьшает двигательную гиперактивность, вызванную СП, ослабляет периферическую вазодилатацию, существенно не влияя на груминг, и встряхивания. Суммируя полученные результаты, можно заключить, что С-концевые трипептиды окситоцина, полиберина, гастрина и СП обладают нейромодуляторными свойствами и регулирующими эффектами, направленными на нормализацию моноаминергических, в основном дофаминергических, процессов мозга.

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДОВ НА МЕМБРАННЫЕ ПРОЦЕССЫ КАК ОСНОВА ИХ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ

Н.А.Авдулов, В.В.Рожанец

Нейрохимические механизмы действия нейропептидов (равно как и иных нейротропных средств) не могут оцениваться только в плане их влияния на обмен нейромедиаторов без учета тех изменений, которые пептиды могут индуцировать в состоянии биологических мембран. Гораздо большего внимания требует оценка изменений мембранных липидов и роли этих сдвигов в кинетике лиганд-рецепторного взаимодействия и рецепторно-эффекторных реакций. Согласно современной жидкостно-мозаичной модели биологических мембран, ее структурными детерминантами являются ассиметричный фосфолипидный бислой с ориентацией полярных головок в водную фазу, и гранулярные белки, расположенные также ассиметрично, либо на поверхности бислоя, либо пронизывающие вязкий липидный матрикс насквозь. Как латеральная подвижность белковых глобул вдоль мембраны, так и активность мембранных белков в значительной мере зависят от агрегатного состояния липидов и липидного состава мембран. Предполагаемая роль липидов в рецепторных механизмах состоит в том, что они либо сами, либо в комплексе с мембранным белком могут являться местами распознавания (recognition sites) для лиганда. Липиды, окружающие рецепторную молекулу, вкрапленную в мембрану, определяют трехмерную структуру активного центра рецептора; изменение состояния мембранных липидов может приводить к изменению конформации рецепторного белка и тем самым менять аффинитет лигандного связывания. Физическое состояние липидной области (домена), окружающей рецептор, детерминирует подвижность рецептора вдоль мембраны, что отражается на интеграции (взаимодействии) лиганд-рецепторного комплекса с эффекторной системой (аденилат-цикловая система или ионный канал).

Выявлено тесное взаимодействие между гликопротеиновым рецептором для TSH, LH и состоянием фосфолипидов мембраны (Aloj et al., 1977). Фосфолипаза C, отщепляющая полярные головки мембранных липидов, уменьшает связывание ^3H -TSH, ^3H -TRH вследствие снижения аффинности рецепторов, но не уменьшения их числа (Hayes et al., 1971; Barden et al., 1973). Стереоспецифическое связывание опиятных лигандов с мозговыми мембранами снижается предварительной обработкой мембран фосфолипазой A_2 (Pasterna et al., 1974). На мембране лейкоцита фагоцитозстимулирующий пептид тафтсин первично взаимодействует с отрицательно заряженными группировками сиаловой кислоты (Constantopoulos, Najjar, 1973).

Состояние липидных компонентов мембраны является существенным также в лиганд-рецепторном взаимодействии КА-ергических синаптических процессов (Loh, Law), 1980). Как число мест связывания специфического для β -адренорецепторов радиолиганда (^3H -DHA), так и сопряжение агонист-адренорецепторного комплекса с аденилатциклозой существенно модифицируется в зависимости от состояния мембран-

ных липидов (Limbid, Lefkowitz, 1976; Hirata et al., 1979; Ber-ridge, 1980). Снижение числа мест связывания ^3H -DNA отмечается после обработки мембраны эритроцитов фосфолиазой-C, отщепляющей полярные головки липидов (Limbid, Lefkowitz, 1976). Это свидетельствует о возможной роли фосфолипидных группировок в распознавании лигандов для β -адреноагонистов. Нарастание числа мест связывания ^3H -DNA с мембраной без изменения аффинитета рецептора (вследствие демаскирования скрытых β -адренорецепторов) наблюдается при метилировании фосфатидил-этаноламина в фосфатидил-холин посредством мембранных метилтрансфераз. β -Агонисты стимулируют метилтрансферазу, что ведет к флюидизации липидного микроокружения, и тем самым облегчают латеральную подвижность β -адренорецептора, а, следовательно, и сопряжение агонист-рецепторного комплекса с аденилатциклазой (Strettmatter, 1979; Hirata et al., 1979).

На основании вышеприведенных данных было высказано допущение (Valdman, 1981), что взаимодействие с мембранными липидами может являться одним из компонентов модулирующего воздействия коротких пептидов на моноаминергические процессы мозга. При этом, по-видимому, должны наблюдаться изменения в активности других мембранных систем, в частности систем синаптосомального транспорта медиаторов.

Влияние коротких пептидов на накопление моноаминов синаптосомами мозга крыс

Опыты проводили на грубой синаптосомальной фракции мозга белых беспородных крыс-самцов массой 180-200 г. В стандартных экспериментах 50 мкл суспензии синаптосом (в среднем 1 мг белка в 1 мл) помещали в среду инкубации, содержащую 100 мМ NaCl, 6 мМ KCl, 2 мМ CaCl_2 , 1,14 мМ MgCl_2 , 5 мМ Na_2HPO_4 , 10 мМ глюкозы, 100 мМ сахарозы, 0,125 мМ паргиллина, 0,54 мМ этилендиаминтетраацетата и 1,14 мМ аскорбиновой кислоты, 30 мМ трис-HCl-буфера, pH = 7,4, меченный медиатор и пептиды в соответствующих концентрациях. Инкубацию проводили при 37°C в течение 20 мин при постоянном перемешивании. Выделение синаптосом из среды инкубации и регистрацию количества связавшегося медиатора проводили по методу Snyder, Coyle, (1969). Белок определяли по Лоури (1951). Результаты обрабатывали статистически с вычислением средних величин и их доверительных интервалов при $p = 0,05$. Полученные данные представлены в табл. 1.

В концентрациях $5 \cdot 10^{-7}$ - $5 \cdot 10^{-5}$ МИФ не оказывал влияния на захват НА и ДА грубой синаптосомальной фракцией, но значительно снижал накопления 5-ОТ. В известной мере это коррелирует с антирезерпиновым действием МИФ на мышцах, а также с активизацией встряхиваний (при внутрижелудочковом введении), что ассоциируют с активацией серотонинергических рецепторов. С-концевой фрагмент га-стрина только в концентрациях $5 \cdot 10^{-5}$ М снижает захват ДА и 5-ОТ.

Таблица 1. Влияние пептидов на аккумуляцию нейромедиаторов (грубая синапсосомальная фракция мозга крыс)

	Концентрация (М)	Аккумуляция медиатора (% к контролю)		
		^3H -НА	^3H -ДА	^3H -5-ОТ
Контроль		100 ± 10	100 ± 10	100 ± 9
Меланостатин (Pro-Leu-Gly-NH ₂)	5·10 ⁻⁶	96 ± 10	94 ± 10	57 ± 6
	5·10 ⁻⁵	105 ± 11*	96 ± 10	54 ± 6*
	5·10 ⁻⁴	101 ± 11*	100 ± 10*	27 ± 3
С-концевой фрагмент гастрина (Met-Asp-Phe-NH ₂)	5·10 ⁻⁷	103 ± 11	97 ± 10	109 ± 11
	5·10 ⁻⁶	140 ± 14*	95 ± 10	118 ± 12
	5·10 ⁻⁵	147 ± 14*	70 ± 8*	60 ± 7*
Тафтсин (Thr-Lys-Pro-Arg)	5·10 ⁻⁶	110 ± 11	110 ± 11	116 ± 12
	5·10 ⁻⁵	63 ± 7*	117 ± 12	74 ± 8*
	5·10 ⁻⁴	59 ± 6*	131 ± 13*	

* $p < 0,05$.

Аккумуляция НА, напротив, достоверно нарастает. Тафтсин в концентрации 5·10⁻⁵ – 5·10⁻⁴ М угнетает захват НА и 5-ОТ при повышении аккумуляции ДА. Эти данные указывают на сложные взаимодействия ряда коротких пептидов с механизмом транспорта медиаторов.

Следует подчеркнуть, что использованная нами методика не позволяет строго дифференцировать влияние пептидов на обратный захват и накопление медиаторов, а отражает лишь суммарный процесс. Возможно, что наблюдаемая нами различная модальность изменения накопления моноаминов под действием исследованных пептидов связана с неодинаковым их влиянием на секрецию и обратный захват медиаторов. Одним из механизмов регуляции секреции медиаторов может являться влияние пептидов на пресинаптические рецепторы, в частности на ауторецепторы.

Изучение влияния коротких пептидов на имидаминовые, бензодиазепиновые и β -адренорецепторы головного мозга мышей

В работе использовали самцов тетрагибридных мышей СВВА. После декапитации мозг немедленно разрушали в среде выделения (0,32 М сахара, 50 мМ трис-НСl, 1 мМ ЭДТА, 0 – 4°С) с помощью гомогенизатора с тефлоновым пестиком. Фракцию неочищенных синапсом (P₂) выделяли с помощью дифференциального центрифугирования, мате-

Таблица 2. Влияние пептидов на аккумуляцию медиаторов

Тафтсин
(Thr-Lys-Pro-Arg)

Меланостатин
(Pro-Leu-Gly-NH₂)

С-концевой фрагмент
гастрина
(Met-Asp-Phe-NH₂)

Тиролиберин
(Gly-His-Pro-NH₂)

В таблице приведены значения B/B_{max} % – отношения концентрации пептида к концентрации, вызывающей максимальный эффект. В таблице приведены значения B/B_{max} % – отношения концентрации пептида к концентрации, вызывающей максимальный эффект. В таблице приведены значения B/B_{max} % – отношения концентрации пептида к концентрации, вызывающей максимальный эффект.

Таблица 2. Влияние коротких пептидов на некоторые рецепторы головного мозга мышей

Пептид	Концентрация (М)	Bi/B max, %		
		³ H-DHA	³ H-ИМ	³ H-ДЗ
Тафтсин (Thr-Lys-Pro-Arg)	10 ⁻⁹		105 ± 9	100 ± 5
	10 ⁻⁶		100 ± 10	88 ± 10
	10 ⁻³	95 ± 9	98 ± 6	103 ± 8
Меланостатин (Pro-Leu-Gly-NH ₂)	10 ⁻⁹		100 ± 11	98 ± 7
	10 ⁻⁶		90 ± 10	100 ± 11
	10 ⁻³	104 ± 8	106 ± 5	110 ± 10
С-концевой фрагмент гастрина (Met-Asp-Phe-NH ₂)	10 ⁻⁹		102 ± 9	106 ± 5
	10 ⁻⁶		103 ± 7	100 ± 9
	10 ⁻³	100 ± 2	90 ± 9	94 ± 8
Тиролиберин (Gly-His-Pro-NH ₂)	10 ⁻⁹		100 ± 10	98 ± 8
	10 ⁻⁶		97 ± 11	100 ± 9
	10 ⁻³	90 ± 12	100 ± 5	110 ± 10

В таблице приведены средние значения из 2-3 независимых опытов. Bi/B_{max}, % — отношение связывания в присутствии данной концентрации пептида к исходному связыванию.

риал суспендировали в 50 мМ трис-HCl (10 мл на 1 г исходной ткани), замораживали при -20°C и хранили не более недели. Специфическое связывание ³H-дигидроальprenолола (³H-DHA), ³H-имидамина (³H-ИМ) и ³H-дiazепама (³H-ДЗ) измеряли по (Raisman et al., 1979; Ticks, 1981; Asakura et al., 1982). Объем инкубационной смеси составлял 0,5 мл, в каждую пробу добавляли по 0,4-0,25 мкг белка мембран. Содержание белка определяли по Лоури (Lowry, 1951). Радиоактивность фильтров подсчитывали с помощью сцинтилляционного счетчика SL-4000 в сцинтиляторе Брея после 12-часовой экстракции метки. Растворы пептидов готовили за 2-3 ч до опыта и повторно не использовали. Результаты опытов представлены в табл. 2.

Как следует из данных, представленных в табл. 2, ни один из изученных пептидов в широком диапазоне концентраций не влияет на специфическое связывание использованных лигандов. Другими словами, эти пептиды не обладают сродством ни к имидаминам, ни к бензодиазепинам, ни к β-адренорецепторам и влияют на моноаминергические механизмы какими-то другими путями. Следует, однако, отметить, что это заключение действительно лишь для данных экспериментальных условий. Так, связывание ³H-дiazепама и ³H-имидамина традиционно исследуется при 0°C, а ³H-дигидроальprenолола — при 25°C.

Не исключено, что при физиологических температурах, когда фазовое состояние мембранных компонентов изменяется, влияние пептидов на данные рецепторы будет иным.

В значительной степени фазовое состояние мембран определяется состоянием их липидного компонента. Не исключено, что модулирующее влияние исследованных пептидов на моноаминергические процессы связано с их влиянием на липидную фазу мембран.

Взаимодействие исследованных пептидов с модельными фосфолипидными мембранами

Модельные фосфолипидные мембранные пузырьки (липосомы) получали быстрым впрыскиванием этанольного раствора суммарной фракции фосфолипидов куриного яйца в буферный раствор (трис-HCl, pH = 7,4) (Batzri et al., 1973). Полученные липосомы имели одну бислойную оболочку. В качестве зонда использовали 1-анилинонафталин-8-сульфонат (1,8-АНС), который располагается в области полярных головок липидов (Добрецов, Владимиров, 1980). Флуоресценцию зонда возбуждали при $\lambda = 360$ нм и регистрировали при $\lambda = 480$ нм. При этих условиях практически вся регистрируемая флуоресценция обусловлена люминисценцией связанного с мембраной зонда. Эксперименты проводили при стандартных концентрациях мембран (0,2 мг/мл) и зонда (10 мкМ). Водные растворы пептидов добавляли к суспензии микрошприцем. Регистрацию флуоресценции проводили на спектрофлуориметре. Полученные данные представлены в табл. 3.

Все исследованные пептиды проявили активность во взаимодействии с липидным компонентом мембраны. Меланостатин обладал наи-

Таблица 3. Характеристики взаимодействия коротких пептидов с модельными фосфолипидными мембранами

Пептид	K_c	$N_{уд}$	$K_c \cdot N_{уд}$	f_n (%)
Меланостатин (Pro-Leu-Gly-NH ₂)	0,08	34,3	2,7	0,3
С-концевой фрагмент гастрина (Met-Asp-Phe-NH ₂)	0,23	33,9	7,8	0,3
Тиролиберин (Gly-His-Pro-NH ₂)				
Тафтсин (Thr-Lys-Pro-Arg)	0,05	28,7	1,4	0,3

K_c - константа связывания - mM^{-1} ; $N_{уд}$ - удельное число мест связывания, $K_c \cdot N_{уд}$ - суммарное сродство к мембранам; f_n , (%) - показатель изменения плотности поверхностного заряда мембраны.

большой, тафтсин — наименьшей аффинностью. Все исследованные пептиды оказывали одинаковое воздействие на плотность поверхностного заряда модельных мембран, не изменяя аффинности 1,8-АНС к мембране. Это позволяет заключить, что при взаимодействии с мембраной короткие пептиды изменяют структуру полярных головок фосфолипидного бислоя.

Влияние исследованных коротких пептидов на накопление нейромедиаторов, видимо, обусловлено общим числом молекул, связанных с мембраной (что пропорционально показателю $K_c \cdot N_{уд}$) и происходящими вследствие этого изменениями плотности поверхностного заряда мембраны (что пропорционально показателю $f_n, \%$). Общим свойством исследованных пептидов является их одинаковое влияние на плотность поверхностного заряда липидной части мембраны. Поэтому чем "чаще" эти пептиды располагаются в мембране (что пропорционально $N_{уд}$), тем в большей мере они изменяют ее состояние. Отмечена хорошая корреляция между удельным числом центров связывания пептидов с мембранами и их влиянием ($5 \cdot 10^{-5} M$) на накопление серотонина синаптическими ($r = 0,8$).

Наши данные свидетельствуют о том, что влияние исследованных коротких пептидов на синаптическую передачу моноаминов до некоторой степени обусловлено их взаимодействием с липидной фазой мембран, что, однако, не исключает возможности существования других, более специфичных мишеней для этих веществ *in vivo*.

$K_c \cdot N_{уд}$	$f_n (\%)$
2,7	0,3
7,8	0,3
1,4	0,3

число мест
ам; $f_n, (\%)$ —
да мембраны.

ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНЫЕ ПЕПТИДЫ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВНУТРИВИДОВОГО ПОВЕДЕНИЯ

В.П.Пошивалов

Результаты изучения экстрагормональных влияний синтетических нейропептидов обобщены в целом ряде обзоров (Ашмарин, 1977; Клуша, 1978; Мышлякова и соавт., 1981; De Wied, 1980; Kastin et al., 1979). Однако, в них не содержится сведений о возможном участии пептидов в контроле внутривидового (зоосоциального) поведения. Исходя из общих представлений о полифункциональности пептидов можно думать, что пептидные биорегуляторы имеют непосредственное отношение также и к интеграции сложных форм внутривидового поведения (агрессии, защиты, общительности и т.п.). Полагают, что биологические функции непосредственно определяет не структура всего пептида, а только определенные активные участки его молекулы, так называемые сигнатуры (Кастлер, 1967; Чипенс и соавт., 1980). В одной молекуле может быть закодировано несколько сигнатур (свойств), определяющих различные функции и обуславливающих полифункциональность большинства пептидов. Этим, в известной мере, могут объясняться разнонаправленные эффекты пептидов на отдельные формы внутривидового поведения. Допускается, что гипоталамо-гипофизарные пептиды могут запускать некоторые программы видотипичного поведения. Например, ангиотензин-1 при инъекции в передний гипоталамус и преоптическую область вызывает специфические видотипичные питьевые поведенческие реакции. Гипоталамо-гипофизарные пептиды, видимо, имеют прямое отношение к интеграции таких эмоционально-мотивационных состояний как агрессия и защита. Многочисленные исследования по электрической стимуляции гипоталамуса (Звартау, 1969; Козловская, 1971; Вальдман 1972; Вальдман и соавт., 1976), показывают наличие именно в гипоталамусе нейрональных элементов, обеспечивающих запуск конечных (в этологической терминологии — консуматорных) элементов агонистического поведения. Так, прямая электрическая стимуляция вентро-медиального ядра гипоталамуса вызывает поведенческие проявления защиты, а латерального гипоталамуса — поведенческие проявления агрессии. Ряд авторов (Ашмарин, 1977; De Wied, 1973), отмечают, что синтез некоторых нейропептидов (АКТГ, вазопрессин) связан с процессами приобретения индивидуального опыта (обучением, памятью). Обучением неизбежно сопровождаются и процессы внутривидового взаимодействия, в том числе агрессивного. Внутривидовая агрессия мышей-самцов, которые были реципиентами экстрактов мозга от высокоагрессивных мышей-самцов (имевших положительный опыт побед в драках), значительно понижалась при субдуральном введении им этих экстрактов (Webster, Fox, 1974). Полагают, что у мышей-доноров во время ежедневных драк в мозгу синтезируются пептиды, которые обладают свойствами отрицательного подкрепляющего фактора и эта "информация" тормозит реализацию агрессии у мышей-реципиентов. Показано, что территориальное поведение доминирования и агрес-

сии монгольских песчанок зависит от синтеза клетками преоптической области пептидного фактора, который однако не был идентифицирован. Введение ингибиторов синтеза белка, актиномицина-Д и пурамицина подавляет территориальное поведение и агрессивность (Ungar, 1975).

В настоящей работе исследовались фармако-этологические спектры действия гипоталамо-гипофизарных пептидов и их фрагментов на внутривидовое поведение. Опыты проводили на 240 изолированных мышамсамцах массой 25 ± 2 г. Анализ эффектов пептидов проводили в условиях свободного парного взаимодействия агрессивной изолированной мыши со стандартным партнером из группы. Регистрацию поведения и обработку результатов опытов проводили специально разработанным комплексом "Этограф-ЭВМ ЕС 1022" (Пошивалов, 1978). Этот комплекс позволяет регистрировать от 1 до 40 различных элементов поведения (актов и поз), частоту их появления, последовательность и длительность. Все поведенческие акты были классифицированы по мотивационным категориям — оценивались внутривидовое (зоосоциальное) поведение: агрессия, защита, общительность, амбивалентное поведение, а также индивидуальное поведение: локомоция, чистка, сидение на месте и т.п. Была составлена специальная программа обработки результатов опытов: вычислялись статистические вероятности появления каждого события (акта, позы) за каждую минуту опыта и за весь опыт в целом. Все пептиды вводили внутривентриально. Достоверность различий между контролем (0,9% физраствор) и опытом (инъекции пептидов) определяли по непараметрическому T^{Δ} критерию Вилкоксона.

Адренокортикотропный гормон (АКТГ), кортикотропин

Использовались АКТГ₁₋₂₄ (Ciba), АКТГ₄₋₁₀ (H-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly_{OH}, Serva). АКТГ₁₋₂₄ (25 мкг) через 5 мин после введения вызывает понижение частоты атак, не влияет существенно на внутривидовую общительность (которая была резко снижена в условиях изоляции), усиливает груминг и обостряет проявления защиты и тревоги (табл. 1). Через 15-60 мин наблюдается усиление агрессии, снижение внутривидовой общительности, но активируются амбивалентные формы поведения и груминг. Существенным агрессогенным действием обладают только те фрагменты пептида, которые содержат активный центр АКТГ (АКТГ₄₋₁₀, АКТГ₁₋₂₄), а другие фрагменты, например, АКТГ₁₁₋₂₄, проявляют нечеткое воздействие на частоту драк у мышей (Brain, Evans, 1977). При субхроническом введении АКТГ₁₋₂₄ в течение 4 сут (по 25 мкг в сутки) внутривидовая агрессия снижается, повышается общий уровень исследования партнера, резко усиливается груминг собственного тела (но не партнера), подавляются амбивалентные реакции. Введение АКТГ₁₋₂₄ (10 мкг) на фоне диазепама (3 мг/кг) противодействует его угнетающему действию на проявления угрозы и амбивалентные формы поведения и облегчающему влиянию диазепама на внутривидовую общительность. Иначе говоря, АКТГ₁₋₂₄ выступает как антагонист диазепама по влиянию на указанные категории поведения (рис. 3).

Таблица 1. Фармако-этологические спектры активности гипоталамо-гипофизарных пептидов

Пептиды, дозы	АКТГ ₁₋₂₄ , 25 мкг	АКТГ ₄₋₁₀ , 25 мкг	МИФ, 25 мг/кг	ТРГ, 25 мг/кг	ЛГ-РГ, 25 мг/кг	ССТ, 5 мг/кг
Поведение						
Агрессия	▽	△	▲	△	▲	▽
Угроза	▽△	▽	△▽	▽	▽△	▲
Общительность	▽△	▽	▽	▽	△	▽
Амбивалентность	▲	▽	△	▽	△	△
Локомоция	▽	△	△	▲	▽△	▽
Груминг	▲	△	△▽	△	▲	▽△
Сидение	△	▽	▽	▽	▽	▲

Указан эффект пептидов через 5 мин после внутрибрюшинного введения. Δ – усиление, ∇ – угнетение, черные треугольники – статистически достоверные изменения, $p < 0,05$ по T^{Δ} -критерию Вилкоксона.

АКТГ4-10 (25 мг/кг) через 5 мин после введения достоверно увеличивает латентный период первой атаки у агрессивных изолянтов, несущественно усиливает частоту атак, понижает внутривидовую общительность и локомоцию, но активизирует индивидуальный груминг (табл.1). Через 30 мин усиливается агрессия и проявления угрозы, подавляется общительность и амбивалентное поведение.

Таким образом, АКТГ₁₋₂₄ при остром введении проявляет первоначальное кратковременное подавление внутривидовой агрессии, переходящее в активацию агрессии, а при субхроническом введении развивается стабильный антиагрессивный эффект. Возможно, что острый и хронический эффекты имеют различные механизмы. Первоначальное снижение агрессии может быть обусловлено анксиогенными свойствами АКТГ₁₋₂₄. Ряд поведенческих эффектов этого пептида может интерпретироваться как результат усиления страха, например, облегчение усвоения реакции избегания и задержки затухания некоторых задач с аверсивным подкреплением. Высокая освещенность, незнакомая обстановка усиливают эффекты АКТГ₁₋₂₄ у крыс. Введение АКТГ₁₋₂₄ снижает время, проведенное в активном взаимодействии (общительность) как у крыс, так и мышей (File, Clarke, 1980). Этот эффект проявляется в короткие промежутки времени после введения пептида (5 мин) и, видимо, не связан с высвобождением кортикостероидов. Периферическое введение АКТГ₄₋₁₀ (25 мкг) также снижает общительность мышей. Периферические и центральные эффекты АКТГ₄₋₁₀ и АКТГ₁₋₂₄ у мышей и крыс сходны. Внутрижелудочковое введение малых доз АКТГ₁₋₂₄ (1,25 мкг),

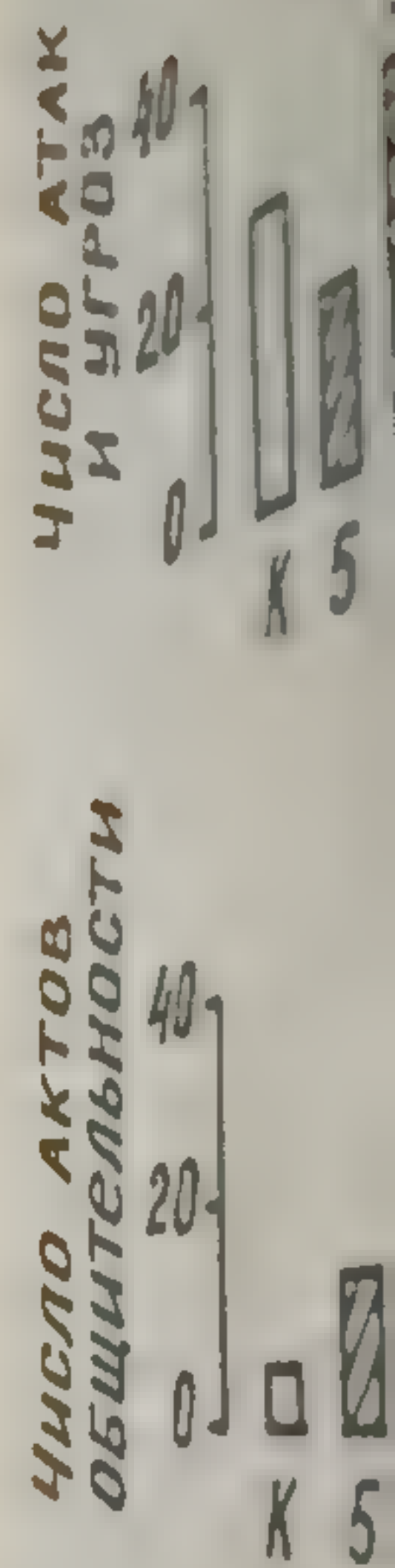


Рис. 3. Действие АИ на частоту атак и угрозы эффект АКТИ-24, эффект АКТИ-24, лам (ДЗ) 3 мг/кг и 10 мг (n = 12). Кварные различия между

АКТТ 4-10 (1.6 мкг), А
1980) снижает активное
кой же эффект наблюдается
(50 мкг/кг) в АКТТ 4-1
ко исследование партнер
в новой ситуации. В то
социального взаимодействия
но заметны, когда поэ
двух пептидных фрагмен
вом введения более хар
Груминг, интенсивная ч
снижать уровень активн
ности, вызванную ан
ксиогенные свойства ан
антагонистически ан
внутривидовую

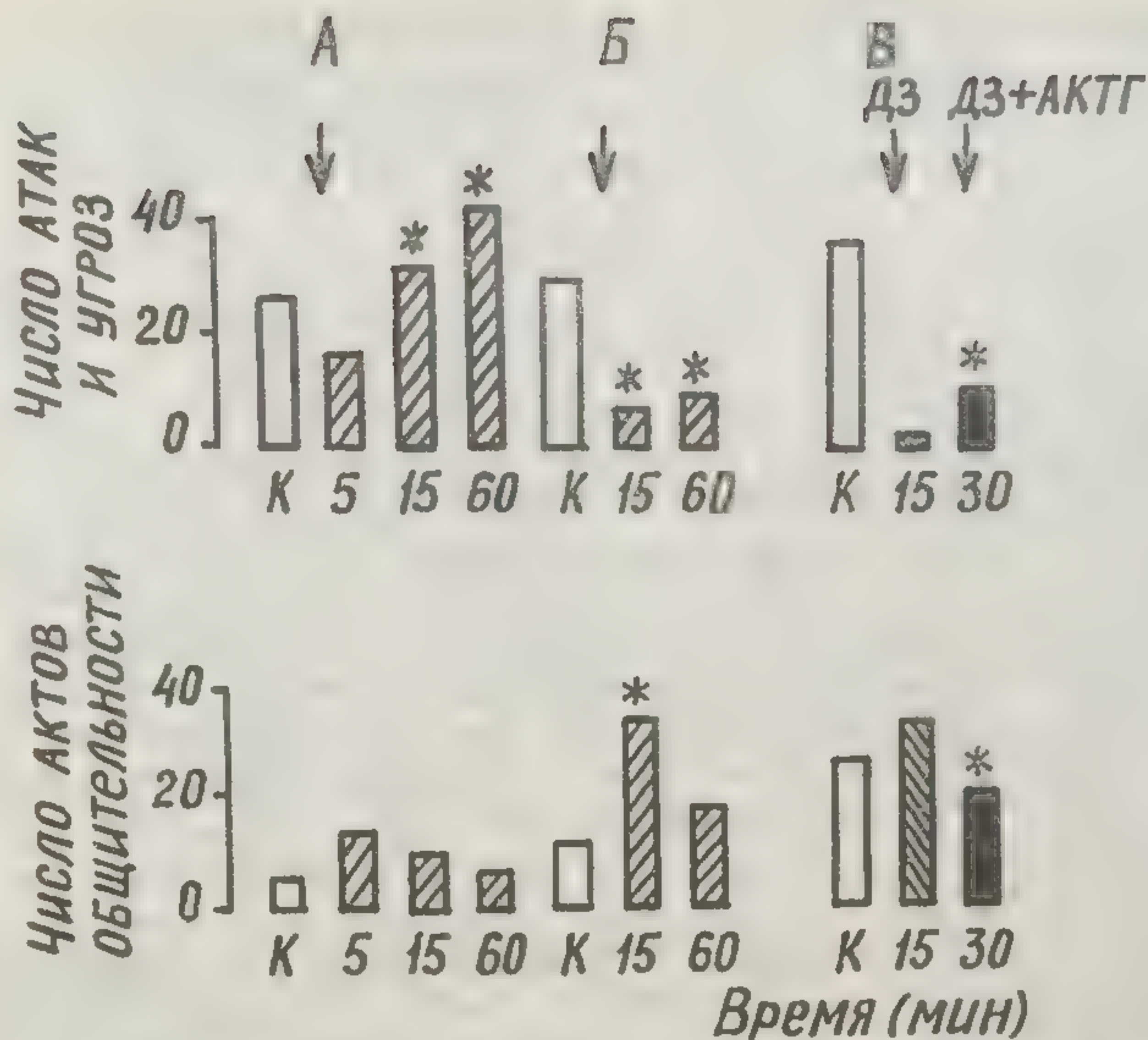


Рис. 3. Действие АКТГ₁₋₂₄ и диазепама (ДЗ) на среднюю частоту атак и угроз и уровень общительности: А – острый эффект АКТГ₁₋₂₄, 25 мкг (n = 12); Б – хронический эффект АКТГ₁₋₂₄, 25 мкг, 5 сут (n = 10); В – диазепам (ДЗ) 3 мг/кг и диазепам совместно с АКТГ₁₋₂₄, 10 мкг (n = 12). К – контроль. * при $p < 0,05$ достоверные различия между К и инъекцией веществ.

АКТГ₄₋₁₀ (1,6 мкг), АКТГ₄₋₁₀: D-Phe (1,6 мкг) (File, Clarke, 1980) снижает активное зоосоциальное взаимодействие у крыс. Такой же эффект наблюдается и при периферическом введении АКТГ₁₋₂₄ (50 мкг/кг) и АКТГ₄₋₁₀ (40 мкг/кг). АКТГ₁₋₂₄ снижает не только исследование партнера, но также исследование в открытом поле и в новой ситуации. В то же время он более активен в подавлении зоосоциального взаимодействия у крыс, чем АКТГ₄₋₁₀. Отличия особенно заметны, когда дозы берутся в отношении молекулярных масс этих двух пептидных фрагментов. Активация груминга при внутрижелудочковом введении более характерна для АКТГ₁₋₂₄, чем для АКТГ₄₋₁₀. Груминг, интенсивная чистка, с этологической точки зрения способны снижать уровень активации, шунтировать избыточную активацию, в частности, вызванную анксиогенным эффектом АКТГ. Возможно, что анксиогенные свойства АКТГ₁₋₂₄ имеют значение в реализации его антагонистических влияний по отношению к эффектам диазепама на внутривидовую общительность.

Усиление агрессивного поведения изолированных мышей при остром введении АКТГ₁₋₂₄ и АКТГ₄₋₁₀ хорошо согласуется с представлениями о способности АКТГ усиливать целенаправленную мотивацию, ориентированную на выполнение определенной задачи, селективно улучшать внимание, вызывать общую мобилизацию. Острые эффекты АКТГ₁₋₂₄, отставленные во времени 15-30 мин, могут быть обусловлены выбросом глюкокортикоидов, которые способствуют резкому повышению частоты возникновения атаки (Kostowski et al., 1970). АКТГ₁₋₂₄ (100-600 мкг/кг внутривенно) снижает порог реакции вздрагивания, повышает чувствительность к болевым стимулам, а в дозе 20-50 мкг (внутрижелудочно) вызывает гиперальгетический эффект — уменьшает латентный период и порог болевой реакции. Налоксон (1-5 мг/кг) усиливает это действие. Возможно АКТГ₁₋₂₄ является эндогенным антагонистом эндорфинов, обычно выделяющихся во время болевого стресса. По той же причине он может противодействовать некоторым опиатным эффектам бензодиазепинов, что объясняет его антагонизм к эффектам диазепама на зоосоциальное поведение. Поведенческие эффекты, вызванные хроническим введением АКТГ₁₋₂₄, в известной мере можно сопоставить с поведением животных, терпящих поражение во внутривидовых конфликтах, что порождает постоянные стрессовые реакции с секрецией АКТГ. Введение АКТГ снижает вероятность драк у мышей в условиях поддержания стабильного уровня тестостерона и кортикостероидов (Leshner et al., 1973). Полагают также, что снижение агрессии может быть обусловлено непосредственным центральным (экстрагормональным) эффектом АКТГ₁₋₂₄ (Brain, Evans, 1977).

Суммируя, можно выделить несколько последовательных фаз в действии АКТГ на свободное внутривидовое поведение: первоначальное анксиогенное действие (с понижением общительности), затем усиление текущей мотивационной активности при сужении поведенческого спектра активности (усиление агрессии, снижение общительности) и в условиях хронического введения — снижение внутривидовой агрессии и некоторое расширение поведенческого спектра, обусловленное комплексным гормональным и психотропными эффектами.

Меланоцит-стимулирующий гормон (МСГ), меланотропин

Использовался α -МСГ (AC-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂, Ciba-Geigy). Он является фрагментом АКТГ, содержащим 13 аминокислот, причем последовательность из 5 аминокислот (His-Phe-Arg-Trp-Gly) является активным центром для меланоцит-стимулирующей активности. Острое введение α -МСГ агрессивным изолированным мышам (25 мкг) приводит к первоначальному снижению (5 мин), а затем к усилению агрессии (30 мин) (табл. 1). Острые инъекции естественного β -МСГ белым мышам вызывают у них гиперреактивность, гипервозбудимость — усиливается общая двигательная активность, животные хватают лапами собственный хвост, совершают резкие движения и пр. (Sakamoto, 1966). Введение α -МСГ субхронически 1 раз в сутки (25 + 50 + 25 + 25 мкг) на 4-е сутки приво-



Рис. 4. Действие α -АКТГ на количество драк у изолированных мышей (1-25 мкг соответствует

это к повышению агрессии, что приводит к повышенной общительности не востановившись после очередной острой инъекции агрессии в виде индивидуальных форм агрессивного действия. У животных она становится устойчивой — не реагирует на стимулирующие воздействия. Захват лапами собственного хвоста и поталамуса в результате у интактных животных. Субхроническое введение α -МСГ снижает ее. Различия связаны с тем, что в норме аденогипофизарная функция — заменять функции других основных способностей мозговой деятельности агрессии.

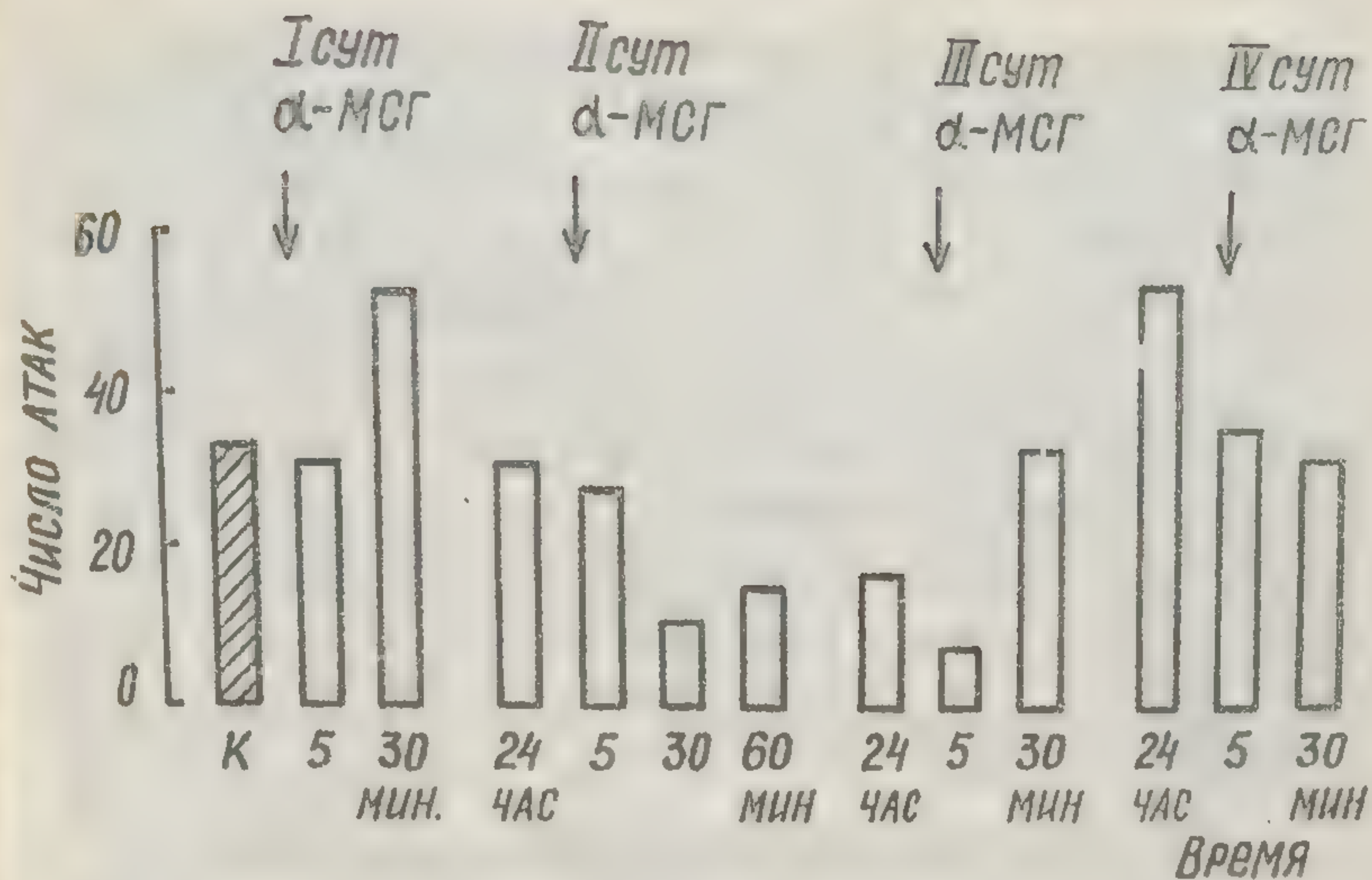


Рис. 4. Действие α -МСГ на внутривидовую агрессию изолированных мышей (I–IV сутки по 25 мкг + 50 мкг + 25 мкг + 25 мкг соответственно)

дило к повышению агрессии (рис. 4). Острые инъекции МСГ на этом фоне приводили к понижению видотипичной агрессии, но внутривидовая общительность не восстанавливалась. У отдельных мышей на 3-и сутки после очередной острой инъекции α -МСГ (25 мкг) происходила инверсия агрессии в защиту, причем это сопровождалось снижением индивидуальных форм активности. Показано (Paterson et al., 1980) агрессогенное действие меланотропина у сгруппированных подчиненных мышей: они становятся менее подчиненными и более агрессивными. У изолированных агрессивных мышей меланотропин оказывает обратное действие – угнетает агрессивное поведение. Меланотропин способен стимулировать серотонинергическую передачу – тормозит обратный захват серотонина и увеличивает концентрацию серотонина в гипоталамусе и среднем мозгу. Серотонинопозитивные эффекты меланотропина могут в известной мере объяснять его седативное действие. У интактных животных МСГ не взаимодействует с серотонинергической системой.

Субхронические эффекты у АКТГ₁₋₂₄ и α -МСГ у изолированных мышей противоположны: α -МСГ обостряет агрессию, а АКТГ₁₋₂₄ снижает ее. Различия в их пролонгированных эффектах возможно связаны с тем, что α -МСГ считается фрагментом АКТГ без существенной адренокортикотропной активности. Кроме того, α -МСГ может изменять функции других систем-мишеней, в частности, эпифиза, которые способны модифицировать агрессивное поведение. Известны две основные мозговые аминные системы, участвующие в интеграции видотипичной агрессии: дофаминергическая – которая облегчает и сер-

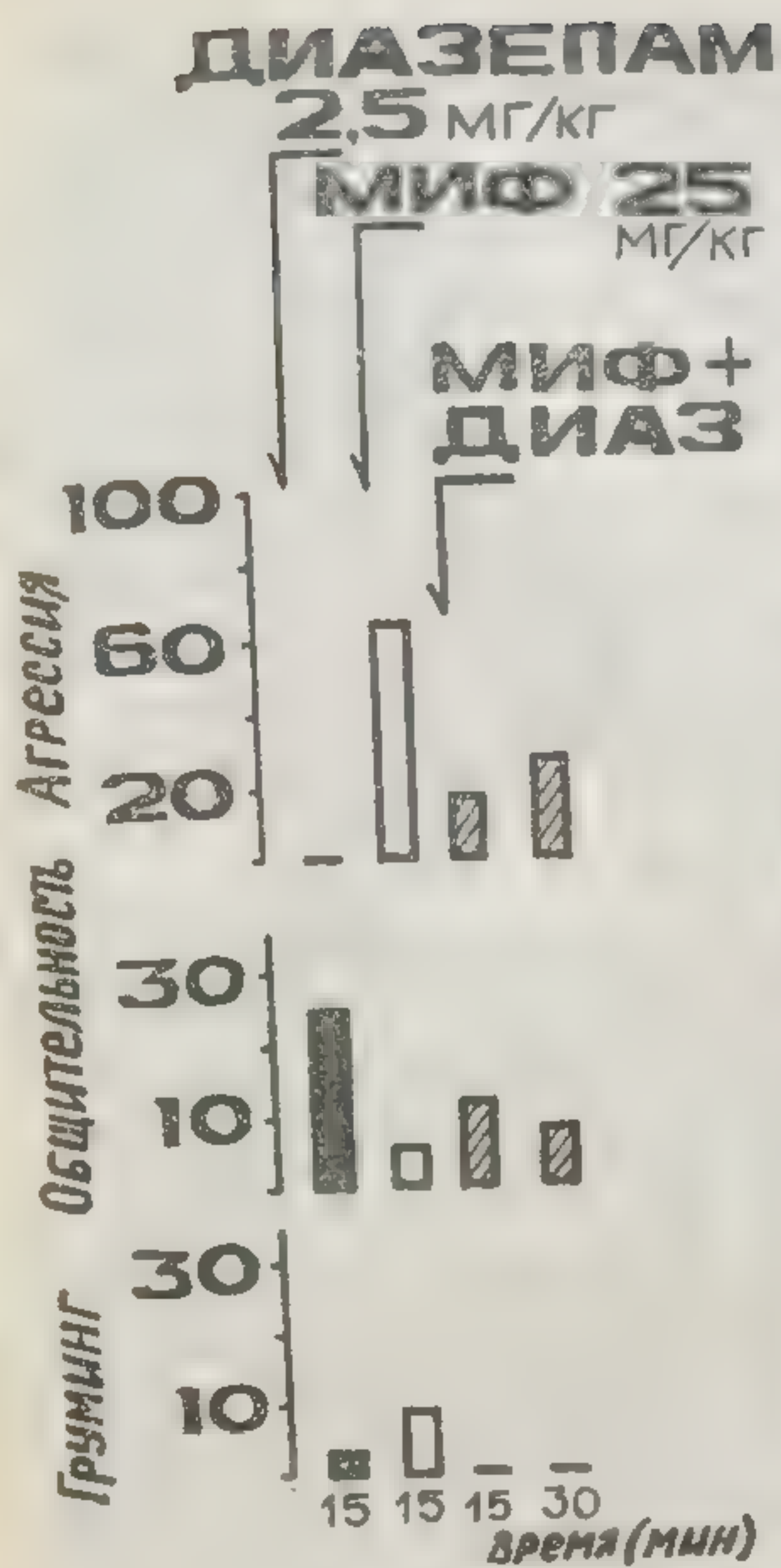


Рис. 5

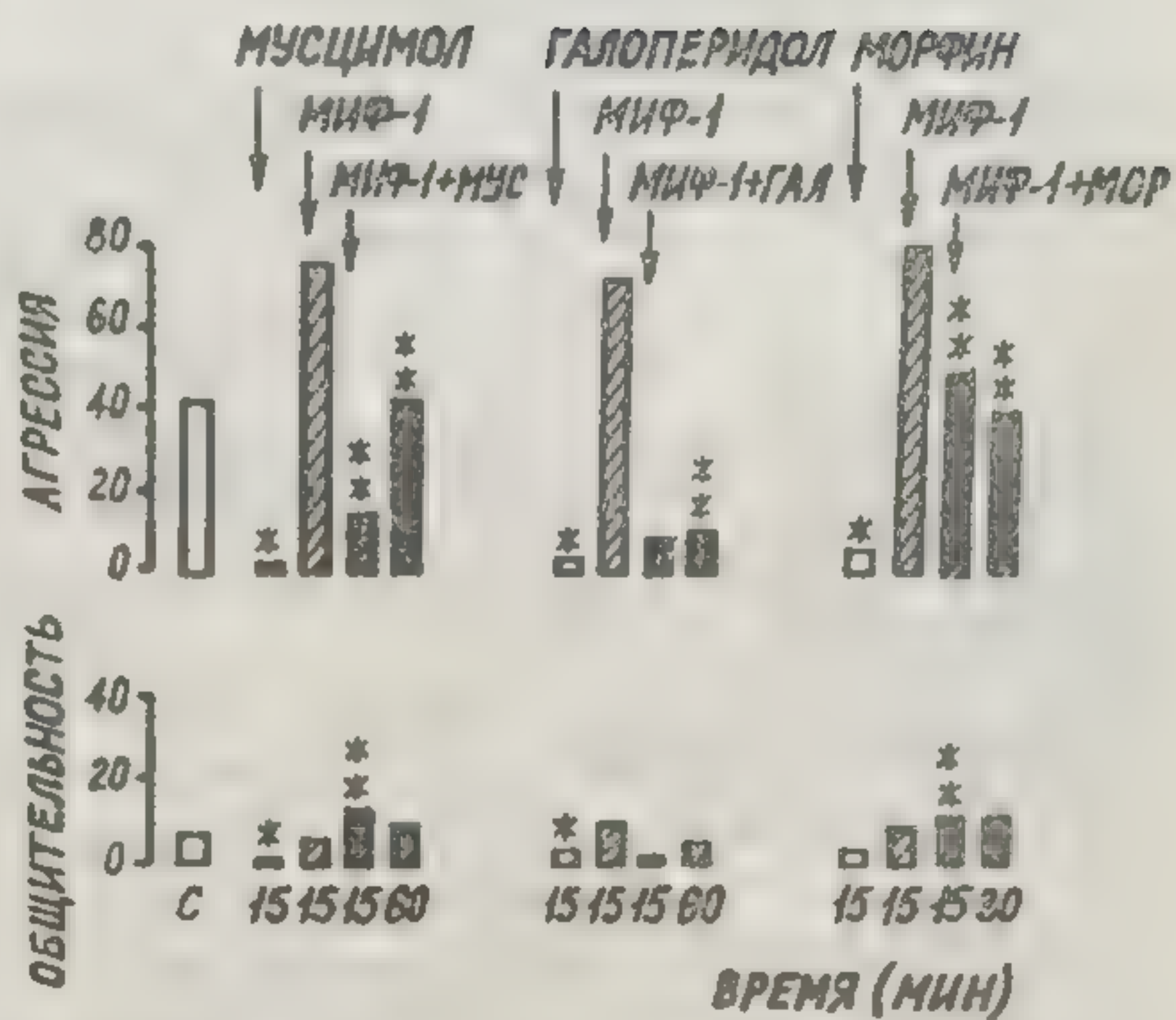


Рис. 6

Рис. 5. Действие МИФ-1 и диазепам на агрессивное поведение, общительность и груминг у изолированных мышей. Стрелками указаны инъекции веществ

Рис. 6. Действие мусцимола, галоперидола и морфина (после МИФ-1, 25 мг/кг) на среднюю частоту атак и уровень общительности: С – контроль, светлые столбики, МУС – мусцимол, 1 мг/кг ($n=12$), ГАЛ – галоперидол, 1 мг/кг ($n=12$), МОР – морфин, 2,5 мг/кг ($n=12$), МИФ-1 – заштрихованные столбики, МИФ-1 совместно с препаратами – черные столбики. Достоверность разницы при $p < 0,05$ по критерию Вилкоксона

потенцирует стереотипию, вызванную апоморфином, но сам стереотипию не вызывает. МИФ противодействует не только антиагрессивному эффекту галоперидола и его угнетающему влиянию на проявление угрозы у мышей, но также проявляет антикаталептогенное действие по отношению к эффектам других нейролептиков, что свидетельствует об его активирующем влиянии на дофаминергические механизмы не только в стриатуме, но и в мезолимбической системе.

МИФ противодействовал антиагрессивному действию мусцимола (1 мг/кг) – агониста ГАМК-ергических рецепторов. Этот эффект в большей степени проявлялся через 60 мин после введения мусцимола (рис. 6). Однако МИФ не антагонизировал эффектам мусцимола на

активность. Груминг на фоне мусцимола и МИФ резко снижался, как и амбивалентные формы поведения. МИФ противодействовал угнетающему влиянию мусцимола на локомоторную активность. Статичные позы поддерживались мусцимолом на фоне МИФ на достаточно высоком уровне. МИФ устраняет антиагрессивное действие морфина (рис. 3). Он видимо, является достаточно сильным антагонистом опиатов, блокирует анальгетический эффект энкефалинов и морфина по тесту отдергивания хвоста, блокирует развитие толерантности к морфину и пентобарбиталу у мышей (Koida et al., 1980), антагонизирует седативному эффекту пентобарбитала. МИФ также предотвращает явление седации у крыс и обезьян, которым вводили дезерпин.

Антагонизм МИФ к большому набору психодепрессантов из различных групп (пентобарбитал, морфин, диазепам, галоперидол и др.) свидетельствует о возможных комплексных активирующих эффектах пептида. МИФ способен вызывать эффекты, подобные поведенческому действию α -МСГ — улучшает исполнение различного рода поисковых задач, улучшает исполнение реакций избегания в авersive ситуациях (Kastin et al., 1979), снижает иммобильность, связанную с длительным плаванием, уменьшает вызванную пуромидином амнезию, поддерживает затухание в тесте прыгивания на стержень. Наши исследования показывают, что МИФ обладает сильным агрессогенным эффектом, который сопровождается дальнейшим сужением спектра поведения у изолированных мышей. Механизм этого действия может основываться не только на дофамин-позитивных, но также и на опиат- и ГАМК-негативных компонентах.

Тиреотропин-рилизинг гормон (TRF), тиролиберин

Введение тиролиберина (pGlu-His-Pro-NH₂, Calbiochem) изолированным агрессивным мышам в дозе 5 мг/кг слабо активирует агрессию, понижает угрозы через 5 мин после введения, вызывает углубление дефицита внутривидовой общительности ($n=12, T\Delta=0, p<0,05$), не изменяя существенно амбивалентных форм поведения, и повышает груминг и моторную активность. В дозе 25 мг/кг TRF резко повышает агрессию, причем этот эффект был выражен в большей степени у мышей с исходно умеренной агрессивностью. TRF подавляет общительность изолянтов, мало изменяет амбивалентное поведение, активирует груминг и другие формы индивидуального поведения (локомоция, подъемы на задние лапы) (табл. 1). TRF (25 мг/кг) слабо противодействует антиагрессивному действию галоперидола (1 мг/кг). Внутривидовую общительность, подавленную галоперидолом, TRF не восстанавливает ($n=12, T\Delta=0, p<0,05$), угнетающему влиянию галоперидола на индивидуальный груминг не противодействует. TRF слабо активирует подавленную галоперидолом индивидуальную моторную активность. Апоморфин (0,5 мг/кг) — агонист DA-рецепторов, на фоне действия TRF вызывает снижение агрессии ($n=12, T\Delta=0, p<0,05$), но по абсолютной частоте поведенческих проявлений агрессия оставалась выше, чем в контроле. Параллельно усиливалась внутривидовая общительность, возрастал груминг, а другие формы индивидуальной активности (локомоция, вертикальная активность), понижались.

Многие компоненты поведенческого эффекта TRG напоминают действие меланостатина. Как и МИФ, тиролиберин повышает чувствительность ДА-рецепторов. TRG оказывает также прямое возбуждающее влияние на большинство нейронов ретикулярной формации мозгового ствола. TRG может предупреждать сон, повышать уровень общей активационной без экстраординарного усиления локомоции, он стимулирует моторную активность, антагонизирует не только действие пентобарбитала, но также противодействует снижению локомоции, вызванному диазепамом (Shishido, Kimishima, 1980). Способностью TRG вызывать генерализованную реакцию активации можно объяснить его активирующее влияние на внутривидовую агрессию изолированных самцов и некоторые виды текущей мотивационной активности.

Лютеинизирующий гормон-рилизинг-гормон (ЛГ-РГ), люлиберин

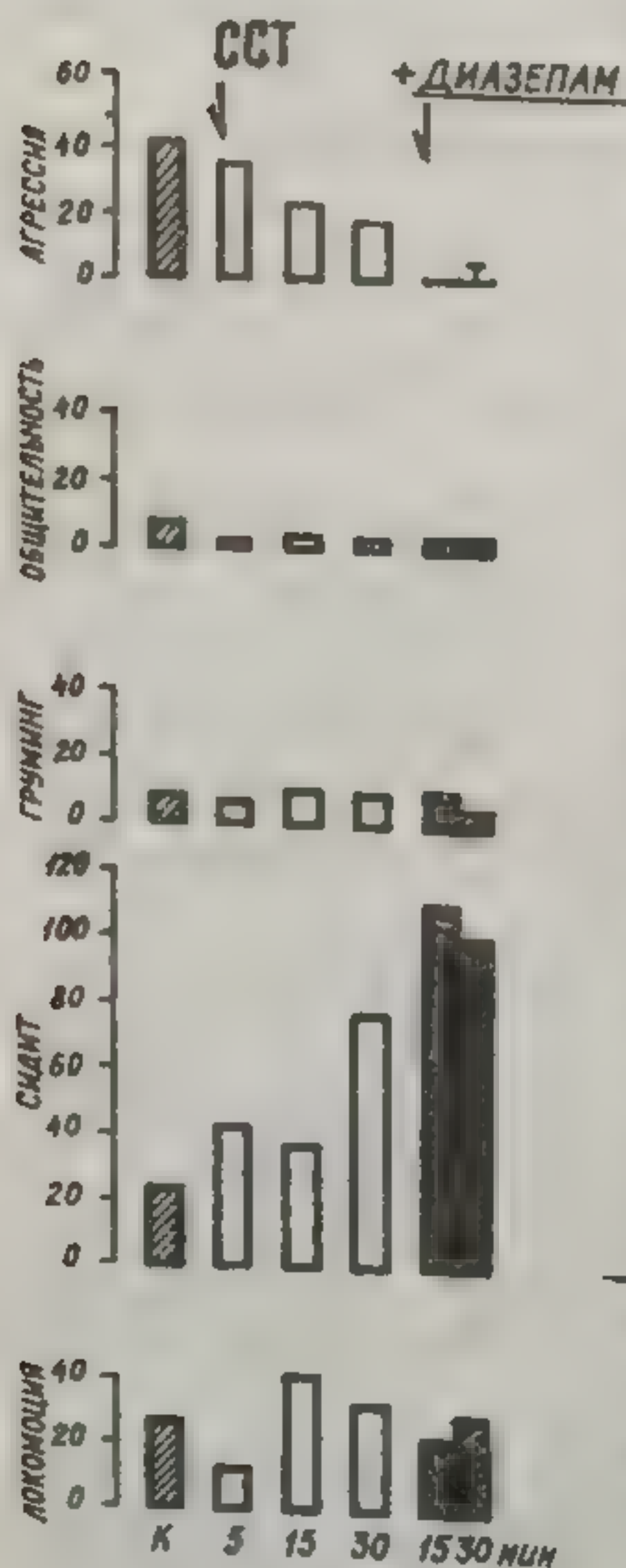
Люлиберин (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂, 10⁹ г/г) в дозе 2,5 мг/кг активировал внутривидовую агрессию у изолированных мышей-самцов, снижал проявления угрозы, понижал общительность. Нарастание эффекта происходило к 15 мин после введения. Одновременно понижались груминг, локомоция, но не вертикальные формы активности. Увеличение дозы ЛГ-РГ в 10 раз (25 мг/кг) не приводило к пропорциональному усилению агрессии, однако по абсолютным соотношениям атаки достигали высоких цифр (к 5-15 мин), угроза слегка понижалась, так как агрессия принимала более открытые формы (табл. 1). Внутривидовая общительность снижалась. ЛГ-РГ снижал амбивалентные формы поведения — двойственность исчезала за счет активации агрессии. ЛГ-РГ в этих условиях незначительно понижал частоту локомоций, но активировал индивидуальный груминг (табл. 1). Отставленный (через 24 ч) эффект ЛГ-РГ проявлялся умеренным повышением агрессии, несущественным повышением общительности, снижением амбивалентности поведения, усилением груминга.

ЛГ-РГ имеет отношение к активации ряда видотипичных поведенческих реакций, в частности, лордоза у крыс. Лордоз развивается не только у кастрированных самок, но и у гипофизэктомизированных самцов, обработанных эстрадиолом (Pfaff, 1973), и у адrenaлэктомизированных животных. Этот поведенческий эффект ЛГ-РГ обусловлен непосредственным воздействием пептида на ЦНС (Moss, 1977). С этологической точки зрения лордоз, вызванный ЛГ-РГ, является лишь фрагментарным (консуматорным) элементом и не представляет весь видотипичный континуум полового поведения. Хотя лордозные позы типичны, поведение крыс необычно, т.к. отсутствуют подготовительные фазы поведения. ЛГ-РГ способен активировать также консуматорные элементы агрессивного поведения изолированных самцов (атаки с укусами), однако и в этом случае не возникает активации подготовительных элементов агонистичного поведения и усугубляется дефицит внутривидовой общительности (табл. 1). Выраженность эффектов ЛГ-РГ на внутривидовую агрессию зависит от исходного уровня агрессивности животных. Апоморфин на фоне ЛГ-РГ вызывает необычный, тормозной эффект, что может быть обусловлено усилением чувствительности ДА-

рецепторов под влиянием ЛГ-РГ. Аналогичный эффект вызывает и TRG. Оба пептида - ЛГ-РГ и TRG проявляют однотипное воздействие на р-тационное поведение. Однако ЛГ-РГ в меньшей степени, чем TRG, потенцирует эффекты 1-ДОФА и серотонина. Инверсия агрессивного поведения на защитное на фоне ЛГ-РГ феноменологически подобна эффекту высоких доз 1-ДОФА у мышей. Это косвенно свидетельствует о ДА-позитивном компоненте механизма центрального действия ЛГ-РГ.

Соматостатин

Соматостатин (ССТ) - гипоталамический тетрадекапептид, ингибирующий высвобождение гормона роста гипофизом. Предполагается, что этот пептид обладает и собственным действием на ЦНС и поведение (Kastin et al., 1979). Введение соматостатина (H-Ala-Gly-Lys-Asp-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH, Serva) агрессивным изолированным мышам (5 мг/кг) вызывало (рис. 5) снижение агрессивного поведения (к 30 мин) с одновременным нарастанием проявлений угрозы и снижением внутривидовой общительности. Непосредственно после введения ССТ (табл. 1) вызывал активацию амбивалентного поведения (эффект ослаблялся к 30 мин) и понижал активные индивидуальные формы поведения (локомоцию, поднятия на задние лапы), не влияя существенно на груминг. Амбивалентное поведение подавля-



лось полностью, возрастала частота индивидуальных статичных поз и понижалась частота вертикальных компонентов индивидуального поведения. Диазепам (2,5 мг/кг) потенцировал антиагрессивное действие соматостатина и его подавляющее действие на внутривидовую общительность (рис. 7). Введение ССТ на фоне галоперидола приводило к потенцированию антиагрессивного эффекта галоперидола и инверсии агрессии в защиту. Внутривидовая общительность полностью подавлялась. Антиагрессивное действие пептида видимо не является избирательным. ССТ способен потенцировать угнетающие эффекты галоперидола, пентобарбитала (Prange et al., 1975), тормозит секрецию многих гипофизарных пептидов (АКТГ, TRG, ЛГ-РГ, пролактина) и гормонов желудочно-кишечного тракта. ССТ не проявляет существенной активности в поведенческих тестах потенцирования 1-ДОФА, серотонина, реверсии оксотремориновых судорог.

Рис. 7. Действие соматостатина (ССТ, 5 мг/кг) и диазепама (2,5 мг/кг) на внутривидовое и индивидуальное поведение. К - контроль. Светлые столбики - эффекты соматостатина, черные столбики - совместные эффекты соматостатина и диазепама

ЭНКЕФАЛИНЫ КАК МОДУЛЯТОРЫ АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫХ И ПОДКРЕПЛЯЮЩИХ СИСТЕМ МОЗГА

Ю.Д.Игнатов

Антиноцицептивная система

В настоящее время можно считать общепризнанным представление о существовании эндогенных болеутоляющих (антиноцицептивных) систем мозга у животных и человека. Это представление сформировалось на основании многочисленных исследований феномена стимуляционной анальгезии, т.е. обезболивания, возникающего при электрическом раздражении различных образований ЦНС и проявляющегося изменением не только перцептивного и эмоционально-поведенческих компонентов боли, но и гемодинамических реакций на боль (Вальдман, Игнатов, 1976; Вальдман, 1980; Калюжный, Голанов, 1980; Судаков, 1980; Зайцев и соавт., 1982; Mayer, Price, 1976; Bishop, 1980). Предполагается, что запуск естественных механизмов регуляции болевой чувствительности лежит в основе анальгезии, вызываемой акупунктурной стимуляцией и раздражением низкороговых афферентных проводников (Васильев и соавт., 1980; Дуринян, 1981; Игнатов и соавт., 1981; Kerr et al., 1978). Биологическая сущность активации эндогенных антиноцицептивных систем мозга заключается в том, что она представляет собой один из способов саморегуляции и самозащиты организма от чрезвычайных воздействий. В нейрофизиологическом плане такая регуляция обеспечивается своеобразным двуединым механизмом реализации антиноцицептивных влияний. Одной из составляющих этого механизма является усиление нисходящего торможения с антиноцицептивных зон мозга на нейроны спинного мозга, связанные с ноцицептивной афферентацией, и на сегментарные механизмы контроля афферентного входа (Вальдман, Игнатов, 1976; Bowsher, 1978). Конечным, супраспинальным выходным звеном большинства антиноцицептивных влияний является система "периакведукт - ядра шва". Центральное серое вещество среднего мозга (ЦСВ), как основная анальгетическая зона ЦНС, имеет нисходящие проекции к нейронам ядер шва, аксоны которых опускаются в спинной мозг через дорсолатеральные канатики (Pomerau, Veubehand, 1979). Нисходящие антиноцицептивные влияния могут также опосредоваться через ядра ретикулярной формации ствола мозга и ретикулоспинальные связи (Bowsher, 1978). С другой стороны, регуляция болевой чувствительности эндогенными анальгетическими системами осуществляется и за счет угнетения гипоталамо-лимбических механизмов формирования эмоционально-поведенческих проявлений ноцицептивных реакций и их гемодинамического сопровождения (Дмитриев и соавт., 1978). Морфофункциональной основой такого угнетения могут быть идентифицированные связи ЦСВ с гипоталамусом и лимбическими структурами (Bobiller et al., 1976). Веским доказательством участия восходящих влияний в возникновении стимуляционной анальгезии являются данные об изменении "паттерна"

импульсной активности нейронов таламуса, кодирующих ноцицептивную информацию, при раздражении ЦСВ (Emmers, 1979).

Концепция о существовании анальгетических систем мозга легла в основу нового подхода к изучению проблемы медикаментозного обезболивания, поскольку было установлено, что эти системы играют существенную роль в болеутоляющем действии опиатов (Вальдман, Игнатов, 1976; Dickenson et al., (1979). Открытие естественных лигандов опиатных рецепторов на фоне сложившегося представления об эндогенных анальгетических системах мозга привело к логически обоснованному предположению о том, что именно энкефалины и эндорфины являются основными нейромодуляторами и/или нейромедиаторами этих систем. В настоящее время эта гипотеза обосновывается рядом косвенных доказательств. Одно из них базируется на выявленной четкой анатомической корреляции между антиноцицептивными зонами и распределением энкефалинов и опиатных рецепторов в различных структурах мозга (Deakin, Dostrovsky, 1979). Кроме того, рядом исследователей установлено, что стимуляционная и акупунктурная анальгезия сопровождаются увеличением в спинномозговой жидкости фракций эндорфинов (коррелирующим с выраженностью обезболивания) и устраняются налоксоном (Terenius, 1978).

Исследование действия синтетических энкефалинов на антиноцицептивную систему

В целях непосредственного экспериментального подтверждения роли морфиноподобных пептидов в деятельности эндогенных болеутоляющих систем следует оценивать влияние энкефалинов и их аналогов на стимуляционную анальгезию (Игнатов и соавт., 1981). Исследовались энкефалины, синтезированные в лаборатории синтеза нейропептидов (М.И.Титов) ВКНЦ АМН СССР. Стимуляционная анальгезия вызывалась раздражением (100 стим/с, 1 мс, 30–350 мкА) ЦСВ среднего мозга крыс и определялась по изменению комплексной структуры ответной реакции животных при градуально увеличивающемся раздражении корня хвоста. Энкефалины и их синтетические аналоги вводили в боковые желудочки мозга в объеме до 5 мкл в широком диапазоне доз. Предварительно, по изменению структуры болевой реакции, была изучена динамика развития их болеутоляющего эффекта и определена ЕД₅₀ анальгетического действия каждого нейропептида (табл. 1).

Мет- и лей-энкефалины в суб- и анальгетических дозах способствовали проявлению антиноцицептивного эффекта при подпороговой, не изменяющей исходную структуру болевой реакции, стимуляции ЦСВ, о чем свидетельствует достоверное повышение порогов возникновения аффективных компонентов боли (рис. 8). Аналогичным действием обладают и синтетические аналоги этих пептидов. Особенно отчетливо стимуляционная анальгезия выявлялась на фоне препарата 95 как при интрацентральном, так и внутрибрюшинном его введении (рис. 9). Все энкефалины усиливали болеутоляющий эффект порогового раздражения ЦСВ, что проявлялось резким угнетением эмоционально-аффективных и даже неспецифических проявлений болевой реакции (рис. 8,9;

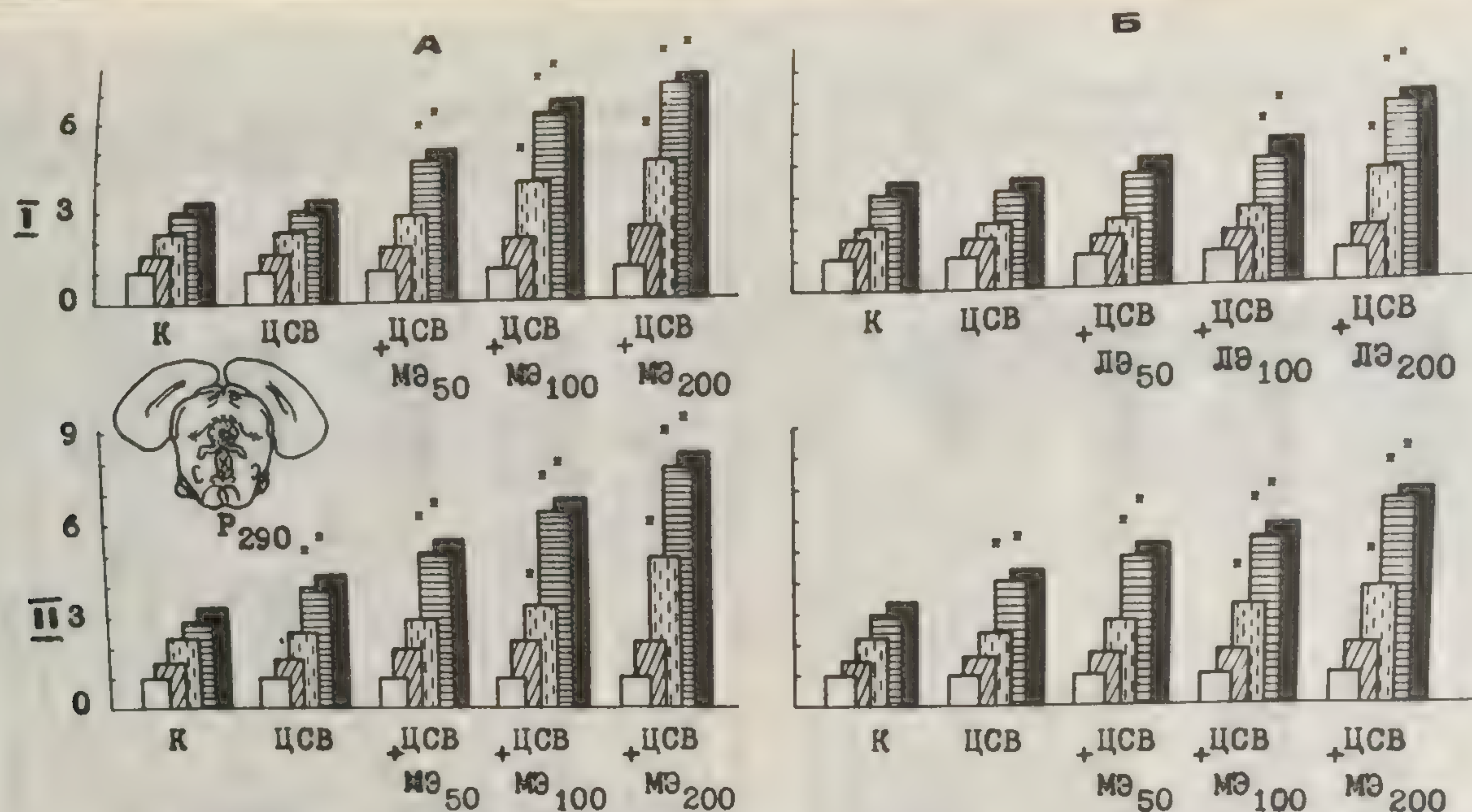


Рис. 8. Влияние мет-энкефалина (А) и лей-энкефалина (Б) на стимуляционную анальгезию: Ось ординат – интенсивность раздражения корня хвоста крысы в порогах, необходимая для возникновения соответствующего компонента болевой реакции, обозначенного столбиками: светлые – вздрагивание, напряжение хвоста; косая штриховка – ориентировочная реакция; точечная – писк; вертикальная – крик; темные – побег. По оси абсцисс – характер воздействия: К – контроль; ЦСВ – стимуляция центрального серого вещества: ЦСВ + МЭ; ЦСВ + ЛЭ – то же на фоне мет- и лей-энкефалинов в соответствующей дозе в мг/кг. I, II – раздражение ЦСВ стимулами пороговой (II) и подпороговой (I) интенсивности. Слева вверху – схема фронтального среза мозга с локализацией электрода

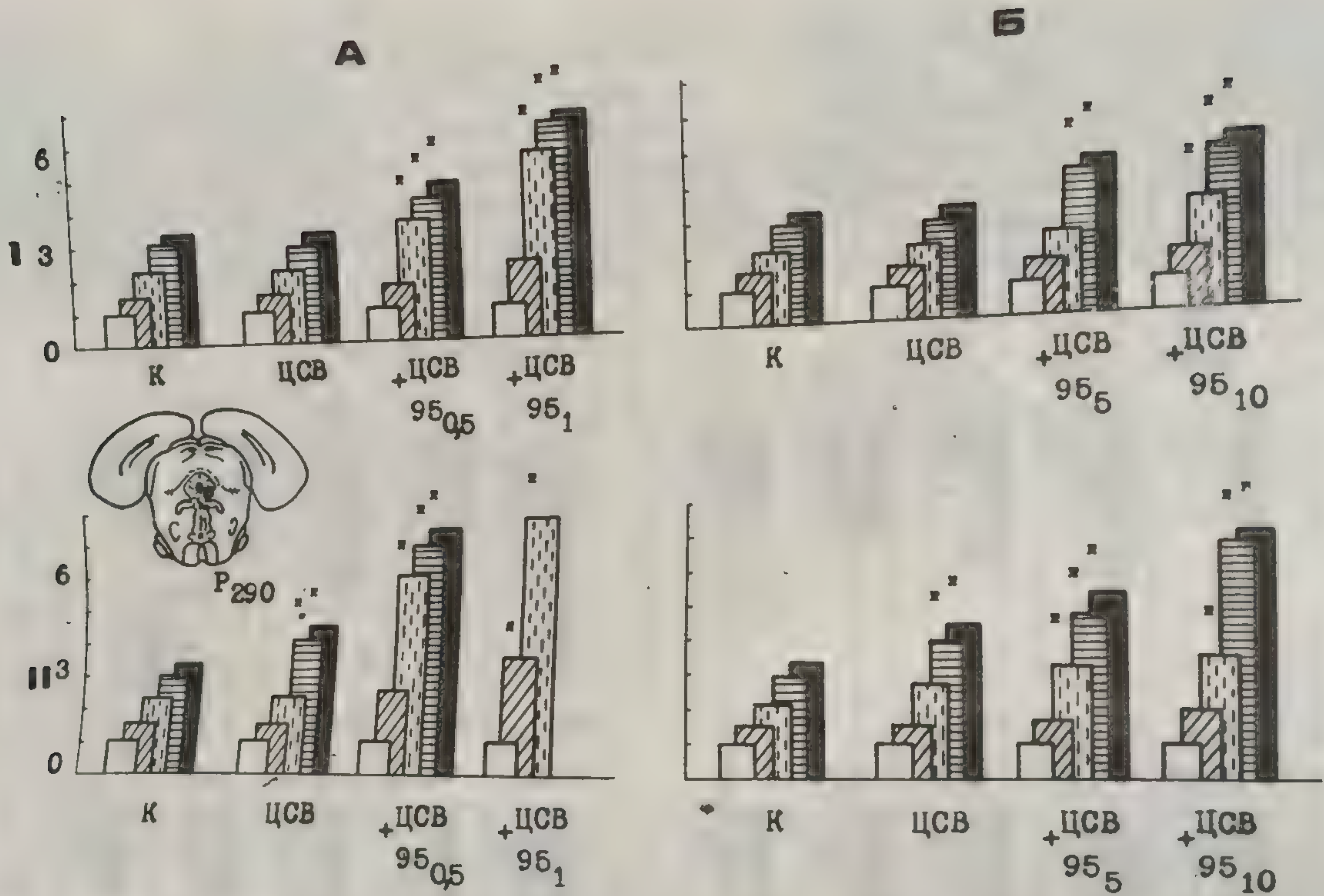


Рис. 9. Влияние препарата 95 при внутрижелудочковом (А) и внутривентрикулярном (Б) введении на стимуляционную анальгезию. Доза препарата для Б указана в мг/кг. Остальные обозначения как на рис. 8

табл. 2). При
эффект стимуля-
более сильное
под влиянием
реакция на
та в 4 пор-
ЦСВ, такое
тировочной

Представ-
фалиты иг-
сти эндорге-
этих систе-
ствия анке-
ствия с опи-
ноцепти-
формиру-
фект также
нейрональ-
в переда-
ler, 198
антиноши-
нов задан-
ташней (П
утолщени-
ных проп-
Значение
анальгез-
положен-
таминном
онную а
антагон-
неодина-
влиянии

Таблица
исследо-
Препар-
Мет-анк
Лей-анк
№ 24
№ 37
№ 89
№ 91
№ 9
№ 9

Таблица 1. Химическое строение и ЕД₅₀ анальгетического действия исследованных нейропептидов

Препарат	Строение	ЕД ₅₀ (мкг)
Мет-энкефалин	Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH	43,5 ± 10,2
Лей-энкефалин	Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH	160,3 ± 30,2
№ 24	Tyr-Gly-Gly-Phe-DArg-OH	67,5 ± 12,8
№ 37	Tyr-DAla-Gly-Phe-NH ₂	8,2 ± 2,4
№ 89	Tyr-DAla-Gly-DPhe-Arg-OH	6,4 ± 1,0
№ 91	Tyr-DAla-Gly-DPhe-Arg-OH	10,9 ± 2,5
№ 93	Tyr-Arg-OH	19,0 ± 1,5
№ 95	Tyr-DAla-Gly-Phe-NO ₂ -NH ₂	0,9 ± 0,4

табл. 2). Причем анальгезия в ряде случаев превосходила суммарный эффект стимуляции мозга и болеутоляющего действия энкефалинов. Наиболее сильно и длительно увеличивалась стимуляционная анальгезия под влиянием препарата 95 (рис. 9). Если в норме генерализованная реакция на боль возникала при интенсивности раздражения корня хвоста в 4 порога, то на фоне действия этого пептида и раздражения ЦСВ, такое же ноцицептивное воздействие сопровождалось лишь ориентировочной реакцией.

Представленный фактический материал позволяет считать, что энкефалины играют существенную роль в регуляции болевой чувствительности эндогенными анальгетическими системами мозга, и активация этих систем является существенным механизмом болеутоляющего действия энкефалинов. Можно предположить, что энкефалины, взаимодействуя с опиатными рецепторами ЦСВ, усиливают его восходящие антиноцицептивные влияния на структуры лимбико-диэнцефального уровня, формирующие эмоционально-поведенческие проявления боли. Этот эффект также сочетается с непосредственным влиянием энкефалинов на нейрональную активность ряда надсегментарных структур, участвующих в передаче болевых сигналов (Фисенко и соавт., 1979; Hosford, Haigler, 1980). Кроме того, энкефалины усиливают нисходящие влияния антиноцицептивных систем и одновременно угнетают активность нейронов заднего рога спинного мозга, связанных с ноцицептивной афферентацией (Bowsher, 1978). Модуляция энкефалинами эндогенных болеутоляющих систем может быть опосредована изменением нейромедиаторных процессов и особенно, серотонинергических, имеющих существенное значение в развитии стимуляционной, акупунктурной и морфинной анальгезии (Майский и соавт., 1981; Bowsher, 1978). Это предположение подтверждается нашими данными об ослаблении п-хлорамфетаминном (5 мг/кг) усиливающего влияния энкефалинов на стимуляционную анальгезию (табл. 2). Однако, обнаруженный нами различный антагонизм ПХА к действию отдельных энкефалинов свидетельствует о неодинаковой роли серотонинергической медиации в их регулирующем влиянии на эндогенные болеутоляющие системы.

Таблица 2. Изменение болеутоляющего эффекта пороговой стимуляции ЦСВ мозга под влиянием энкефалинов и их комбинации с п-хлорамфетамином (ПХА) в дозе 5 мг/кг

Характер воздействия, препарат, доза (мкг)	Пороги возникновения компонентов болевой реакции			
	Ориентировочная реакция	Писк и перемещения	Крик	Побег
Контроль	1,6	2,1	2,7	3,0
Стимуляция ЦСВ	1,6	2,7	3,8*	4,1*
Препараты:				
№ 24 100,0 + ЦСВ	1,9	3,8*	5,9*	6,2*
№ 24 100,0 + (ЦСВ+ПХА)	1,6	2,7*	4,5°	4,8°
№ 37 10,0 + ЦСВ	1,8	4,3*	6,9*	7,0*
№ 37 10,0 + (ЦСВ+ПХА)	1,5	2,9°	4,2°	4,3°
№ 89 10,0 + ЦСВ	1,7	3,8*	6,6*	6,6*
№ 89 10,0 + (ЦСВ+ПХА)	1,5	2,2	3,9°	4,0°
№ 91 25,0 + ЦСВ	1,6	3,6*	6,6*	6,7*
№ 91 25,0 + (ЦСВ+ПХА)	1,5	2,3	4,5°	4,5°
№ 93 25,0 + ЦСВ	1,5	2,9*	5,9*	6,0*
№ 93 25,0 + (ЦСВ+ПХА)	1,4	2,3	4,6°	4,8°
№ 95 1,0 + ЦСВ	1,5	7,0*	8,3*	7,9*
№ 95 1,0 + (ЦСВ+ПХА)	1,4	3,2°	4,8°	4,2°

В таблице не указаны пороги напряжения, вздрагивания хвоста, так как они не менялись ни в одном из опытов, * - $P < 0,05$ - относительно контроля; ° - $P < 0,05$ - относительно эффекта стимуляции ЦСВ. Цифры - средняя интенсивность в порогах, необходимая для возникновения компонента болевой реакции.

Роль подкрепляющих систем в проявлении антиноцицептивного эффекта энкефалинов

Существующее представление об участии энкефалинов в регуляции негативно-подкрепляющих систем мозга сформировалось на основании интерпретации немногочисленных и косвенных данных о влиянии налоксона на реакции избегания периферического аверсивного раздражения

или его действия на аверсивные свойства центральной стимуляции (Herman, Panksepp, 1981). Постулируемый облегчающий эффект налоксона на системы отрицательного подкрепления объясняется, как правило, с позиций увеличения аверсивности стимулов, по аналогии с усилением болевой чувствительности у животных и человека при угнетении опиатных систем мозга (Satoh et al., 1979). Вместе с тем, такой эффект налоксона может быть обусловлен повышением самого наказующего воздействия, т.е. усилением эмоционального компонента негативно-подкрепляющих систем мозга (Звартау, 1980), о чем свидетельствует угнетающее влияние препарата на поведение животных в конфликтной ситуации (Young, 1980).

Значение пептидергических механизмов в деятельности систем отрицательного подкрепления подтверждается также данными о влиянии энкефалинов и эндорфинов на обучение в условиях аверсивного подкрепления. Мет-энкефалин, α - и β -эндорфины угнетают угасание реакции активного избегания (Witte, 1981). Кроме того, мет- и лей-энкефалины в дозе 400 мг/кг и DAla, ²DLeu⁵ - энкефалин в дозе 4 мг/кг достоверно уменьшают формирование навыка активного избегания и этот эффект устраняется налоксоном (Rigter et al., 1980). Предполагается, что такое действие энкефалинов реализуется за счет рецептивных субстанций, отличных от типичных опиатных рецепторов. Агонист опиатных рецепторов леворфанол не только не усиливал, но даже блокировал эффект DAla, ²DLeu⁵ -энкефалина на реакцию избегания. Однако, данные о непосредственном действии энкефалинов на системы "наказания" весьма малочисленны и получены на моделях, позволяющих лишь косвенно судить об изменении активности этих систем.

В исследованиях нашей лаборатории влияние энкефалинов на негативно-подкрепляющие системы изучалось по общепринятой и хорошо апробированной методике реакции выключения аверсивной стимуляции мозга у крыс (Звартау, 1978). Эффект препаратов, вводимых в правый желудочек мозга в дозах 1-200 мкг, оценивали по изменению латентного периода (в контроле 3-5 с) выключения раздражения ЦСВ (100-700 мкА, 1 мс, 100 стим/с) путем перебежки животного в противоположный отсек челночной камеры (Игнатов и соавт., 1981). Установлено, что энкефалины угнетают реакцию активного избегания. Это проявляется достоверным увеличением латенции выключения раздражения ЦСВ (табл. 3). Лей- и мет-энкефалины, а также препараты 89 и 95 оказывали угнетающее действие уже в субанальгетических дозах, в то время как такое же влияние нейропептидов 24, 37, 91 и 93 проявлялось в анальгетических дозах. Действие лей-энкефалина было более выраженным и проявлялось через 35 мин после введения, а мет-энкефалина - через 5 мин. Все энкефалины вызывали дозозависимое угнетение реакции выключения. Этот эффект не связан с изменением мышечного тонуса, так как энкефалины увеличивали не только латенцию выключения центральной стимуляции, но и специально определяемое время от включения раздражения мозга до начала перебежки (рис. 10).

Таблица 3. Влияние энкефалинов и их комбинаций с налоксоном и п-хлорамфетаминном (ПХА) на реакцию выключения стимуляции ЦСВ

Препарат	Доза, мкг	Изменение латенции реакции выключения в % от контроля		
		после препарата	Налоксон (0,25 мг/кг)+ препарат	ПХА (5 мг/кг)+ препарат
Мет-энкефалин	200	+53,0 ± 7,0**	+13,5 ± 10,3*	+12,9 ± 8,8**
Лей-энкефалин	100	+80,2 ± 12,5**	-5,1 ± 3,5**	+61,9 ± 6,3 ⁰
№ 24	100	+55,0 ± 6,8**	+6,2 ± 9,0*	+4,3 ± 3,8**
№ 37	10	+50,3 ± 24,4 ⁰	+4,1 ± 8,0 ⁰	-25,6 ± 8,8*
№ 89	10	+62,7 ± 26,5*	-12,0 ± 12,4*	+7,0 ± 10,8 ⁰
№ 91	25	+35,3 ± 8,2**	-12,2 ± 12,0*	-10,3 ± 5,0**
№ 93	25	+42,1 ± 12,4**	-5,5 ± 3,3*	+24,4 ± 7,5**
№ 95	1	+52,8 ± 13,0**	+21,0 ± 12,0 ⁰	+22,2 ± 18,0 ⁰

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - достоверно по критерию Стьюдента; ⁰ - $p < 0,05$ - достоверно по критерию Вилкоксона-Уитни-Манна. Достоверность в опытах с ПХА вычислялась относительно исходного эффекта энкефалинов.

Депримирующее действие энкефалинов на реакцию выключения свидетельствует о снижении перцепции аверсивности стимулов, которое обусловлено изменением активности структур, входящих в морфо-функциональную систему наказания и имеющих высокую плотность опиатных рецепторов (Atwen, Kuhar, 1977). Нами установлена достаточно четкая корреляционная связь между антиаверсивной и болеутоляющей активностью энкефалинов ($R = 0,89$) и их влиянием на стимуляционную анальгезию ($R = 0,78$), что, по-видимому, свидетельствует об участии пептидергических механизмов в сопряженном функционировании эндогенных болеутоляющих и негативно-подкрепляющих систем мозга. Возможность такого сопряжения подтверждается данными об ослаблении реакции выключения периферической болевой стимуляции на фоне активации антиноцицептивных систем мозга (Рылов, 1981). Следовательно, можно предположить, что энкефалинергические механизмы опосредуют угнетающее влияние эндогенных болеутоляющих систем мозга на перцептивный компонент системы отрицательного подкрепления. Угнетающее действие энкефалинов на реакцию выключения ослаблялось налоксоном, антагонизм которого был более выражен к препаратам 89, 91 и 93 и лей-энкефалину (табл. 3). Различное влияние налоксона на антиаверсивный эффект энкефалинов подтверждает правомочность предположения об определенной функциональной специализации опиатных

Рис. 10. Реакция выключения аверсивности и лей-энкефалина относительно мет-энкефалина и 30 мин. рецепторов, ления (Rigter) фалинергическое значение в реализации системы мозга, влияем на сербующую сивную и сивного гонизм

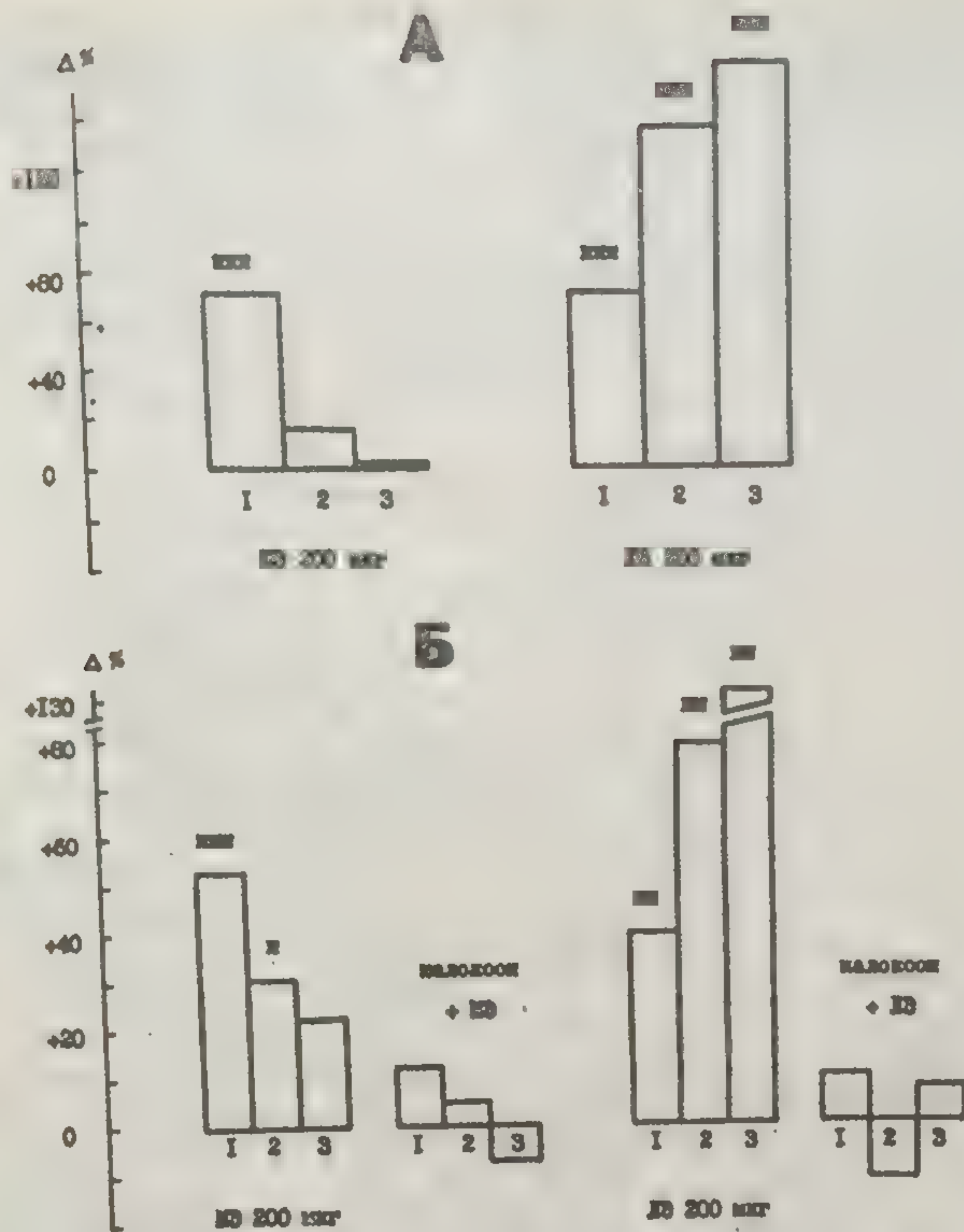


Рис. 10. Изменение латенции начала побежки (А) и выключения аверсивной стимуляции мозга (Б) под влиянием мет- и лей-энкефалинов. По оси ординат – прирост латенции в % относительно контроля (100%). Столбики 1,2,3 – эффект мет-энкефалина (МЭ) и лей-энкефалина (ЛЭ) через 5, 20 и 30 мин после введения

рецепторов, модулирующих активность системы негативного подкрепления (Rigter et al., 1980) и позволяет допустить, что лей-энкефалинергические механизмы и мю-опиатные рецепторы имеют большее значение в регуляции перцепции аверсивных стимулов и их оценке.

Реализация эффектов энкефалинов на негативно-подкрепляющие системы мозга может быть опосредована их нейромодуляторным действием на серотонинергическую медиацию (Garcia-Sevilla, 1980), играющую существенную роль в функционировании этих систем (Вальдрайман и соавт., 1976). Правомочность такого предположения подтверждается нашими данными об уменьшении п-хлорамфетаминотантиаверсивного эффекта энкефалинов (табл. 3). Как видно из таблицы, антиаверсивный эффект энкефалинов был менее выражен к действию лей-энкефалина, чем к

эффекту мет-энкефалина. На фоне ПХА резко ослаблялось антиаверсивное влияние препаратов 24, 89, 91 и 93, а действие препарата 37 даже инверсировалось в облегчающее. Однонаправленные изменения антиаверсивной активности энкефалинов под влиянием налоксона и ПХА свидетельствуют о функциональной взаимосвязи пептид- и серотонинергических механизмов в деятельности систем отрицательного подкрепления. Однако серотонинергический компонент, по-видимому, имеет неодинаковое значение в реализации антиаверсивного эффекта различных энкефалинов, о чем свидетельствует значительная вариабельность антагонизма ПХА к их угнетающему действию на реакции выключения аверсивной стимуляции мозга.

Экспериментальной основой для предположения о роли пептидергических механизмов в деятельности позитивно подкрепляющих систем мозга явились данные о высоком уровне реакции самостимуляции (СС) при электрическом раздражении структур, богатых энкефалинами и о способности налоксона угнетать эту реакцию и уменьшать активирующее влияние на нее морфина (Звартау, 1979; Olds, Williams, 1980). Однако, значимость пептидергических процессов в функционировании разных структур мозга, составляющих систему позитивного подкрепления, по-видимому, неодинакова, поскольку эффект налоксона на СС существенно варьировал в зависимости от активируемых образований (Perry et al., 1981). Более того, на основании данных о незначительном угнетающем влиянии налоксона на реакцию СС центрального серого вещества, имеющего высокую плотность пептидергических нейронов (Versteeg et al., 1976), делается предположение о том, что энкефалинергические системы вовсе не являются ключевым механизмом, опосредующим процесс "награды", а лишь участвуют в модуляции активности определенных структур системы положительного подкрепления (Stapleton et al., 1979). Постулируя роль энкефалинергических механизмов в подкреплении, необходимо учитывать их функциональную гетерогенность, обусловленную неодинаковым сродством мет- и лей-энкефалинов к разным типам опиатных рецепторов, различиями в их биосинтезе и распределении в мозге (Costa et al., 1978). Поэтому логическим продолжением дальнейших исследований в этом направлении следует считать непосредственное изучение подкрепляющих свойств мет-, лей-энкефалинов и их аналогов и дифференцированного участия мет- и лей-энкефалинергических звеньев в регуляции позитивно-подкрепляющих систем, тестируемым по сдвигам реакции СС и по изменению феномена самовведения. В немногочисленных работах такого плана показано, что лей-энкефалин значительно сильнее, чем мет-энкефалин, активировал реакцию самоинъекции (Van Ree, 1979). Однако установлено (Tortella, Moretan, 1980), что подкрепляющие свойства весьма характерны для DAla²-мет-энкефалинамида, который не только вызывал самовведение, но и заменял самоинъекции морфина у морфин-зависимых крыс. Этот пептид усиливал также реакцию СС (Olds, Williams, 1980).

По нашим данным (табл. 4), энкефалины и их синтетические аналоги оказывают разнонаправленное влияние на позитивно-подкрепляющие системы ЦСВ, активность которых оценивалась с помощью мето-

дики pedalной стимуляции (100-600 мкА, 1 мс, 100 стим/с) с фиксированной длительностью раздражения 250 мс. Мет-энкефалин и синтетические пептиды 37 и 89 при внутрижелудочковом введении вызвали дозозависимое угнетение СС. Причем в отличие от морфина (Звартау, 1978), достоверное ее снижение происходило под влиянием этих пептидов в субанальгетических дозах. Лей-энкефалин и пептиды 24, 91, 93 и 95 активировали реакцию СС в суб- и анальгетических дозах. Характерно, что лей-энкефалин в дозах 50 и 100 мкг вызывал облегчение СС, сопоставимое с действием морфина в дозах 2,5 и 5 мг/кг. Введение лей-энкефалина в дозе 200 мкг не сопровождалось достоверным увеличением СС, что, вероятно, связано с возникновением кататонии. Налоксон уменьшал действие энкефалинов на СС. Характерно, что его антагонизм в значительно большей степени проявлялся в отношении облегчающих эффектов препаратов 91, 93 и 95 и менее всего был выражен к угнетающему действию на СС препарата 37 и мет-энкефалина (табл. 4).

Обнаруженное нами разнонаправленное действие нейропептидов на реакцию СС мет- и лей-энкефалинов свидетельствует об их различной роли в регуляции системы позитивного подкрепления. Весьма вероятно, что именно лей-энкефалинергический компонент имеет определяющее значение в опосредовании награждающих эффектов, как одного из ведущих механизмов эйфоригенности, лежащей в основе развития пристрастия и лекарственной зависимости (Вальдман, Звартау, 1980). Отсутствие четкой корреляции между влиянием энкефалинов на стимуляционную анальгезию, на реакцию СС и активного избегания дает основание для предположения о возможной функциональной специфичности (разобщенности) пептидергических механизмов, участвующих в регуляции антиноцицептивных и подкрепляющих систем мозга.

Неодинаковый антагонизм налоксона к облегчающему и угнетающему влиянию мет- и лей-энкефалинов на СС, наряду с данными об их различном аффинитете к отдельным типам опиатных рецепторов (Kosterlitz, 1980), по-видимому, является следствием дифференцированности опиатного рецепторного аппарата в энкефалинергических механизмах регуляции систем позитивного подкрепления. Более того, на основании относительно небольшого антагонизма налоксона к угнетающему эффекту мет-энкефалина на СС можно допустить существование подтипов мю-опиатных рецепторов, отличных от таковых, опосредующих анальгетическое действие энкефалинов. Функциональная разнонаправленность мет- и лей-энкефалинергических механизмов позитивно-подкрепляющих систем, на наш взгляд, может быть также обусловлена их различным сопряжением с нейромедиаторными, и в частности, с серотонин- и дофаминергическими процессами, участвующими в регуляции этих систем (Звартау, 1980). В пользу такого предположения свидетельствуют результаты наших опытов об изменении эффектов энкефалинов на СС на фоне п-хлорамфетамина (табл. 4). Так, ПХА практически полностью блокировал угнетающий эффект мет-энкефалина и препаратов 37, 91 и в значительно меньшей степени изменял облегчающее действие лей-энкефалина и его аналога. Известно, что мет-энкефалин в большей степени по сравнению с лей-энкефалином

Таблица 4. Влияние энкефалинов и их комбинаций с налоксоном и п-хлорамфетамином (ПХА) на реакцию самостимуляции центрального серого вещества среднего мозга.

Препарат	Доза, мкг	Изменение частоты самостимуляции в % от контроля		
		после препарата	Налоксон (0,25 мг/кг) + препарат	ПХА (5 мг/кг) + препарат
Мет-энкефалин	200	$-21,9 \pm 6,1^{**}$	$-15,7 \pm 12,2^0$	$+ 0,2 \pm 5,7^*$
Лей-энкефалин	50	$+33,4 \pm 9,4^*$	$+ 3,9 \pm 3,3^0$	$+27,8 \pm 3,4^{**}$
№ 24	100	$+30,4 \pm 9,2^{**}$	$+ 6,8 \pm 12,8^0$	$+29,0 \pm 7,7^{**}$
№ 37	10	$-83,8 \pm 12,7^{**}$	$-33,4 \pm 17,6^*$	$-11,9 \pm 3,1^{**}$
№ 89	10	$-44,5 \pm 14,2^*$	$+ 6,4 \pm 3,9^*$	$-49,2 \pm 6,9^*$
№ 91	25	$+18,3 \pm 7,2^*$	$-39,8 \pm 10,8^{**}$	$+ 1,3 \pm 3,4^0$
№ 93	10	$+24,4 \pm 7,5^{**}$	$-16,8 \pm 2,9^{**}$	$+11,7 \pm 3,7^0$
№ 95	1	$-18,4 \pm 6,6^*$	$-10,9 \pm 2,6^{**}$	$- 3,6 \pm 3,8^0$

В опытах с налоксоном и ПХА достоверность определялась относительно исходного эффекта энкефалинов на реакцию СС. Остальные обозначения, как в табл. 3.

повышает кругооборот серотонина в различных структурах мозга, а лей-энкефалин сильнее, чем мет-энкефалин активирует дофаминергические системы (Garcia, Servilla, 1980). Кроме того, допускается, что дельта-опиатные рецепторы, аффинитет к которым отчетливее у лей-энкефалина (Wuster et al., 1980), больше сопряжены с дофаминергическими механизмами. Следовательно, на основании наших и литературных данных можно предположить, что мет-энкефалинергический компонент пептидергической регуляции систем позитивного подкрепления связан с серотонинергическими процессами, а облегчающий лей-энкефалинергический — опосредуется дофаминергической медиацией.

Одно
наркоти
спинного
переклю
мы, регу
шим отд
нента в
пептидов
ман, Игн
Collis,
веществ
виях раз
пептиды
наркотиче
рассматр
объединя

Влиян
на перед

Рядом
при подве
ные пепти
боли у че
этом у жи
флекс, та
например,
горячей п
рования э
и опиоидн
устранения
причинами
периментал
ощущений.
ограничива
ному мозг
уровне сли
других вид
опиоидных
под влияни
витию анти
рименты с

О СПИНАЛЬНОМ КОМПОНЕНТЕ В БОЛЕУТОЛЯЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ И НАРКОТИЧЕСКИХ АНАЛЬГЕТИКОВ

Д.А.Харкевич, С.А.Каспаров

Одной из вероятных точек приложения болеутоляющего действия наркотических анальгетиков и опиоидных пептидов являются структуры спинного мозга. Уже на этом уровне, где происходит синаптическое переключение с первичных афферентов, включаются сложные механизмы, регулирующие проведение ноцицептивных импульсов к зышележащим отделам ЦНС. Доказательства существования спинального компонента в механизме действия наркотических анальгетиков и опиоидных пептидов приводятся в ряде публикаций обзорного характера (Вальдман, Игнатов, 1976; Харкевич, Титов, 1982; Yaksh, 1981; Kitahata, Collis, 1981). Полагают, что введение морфина и морфиноподобных веществ в организм имитирует эффекты, которые в естественных условиях развиваются при высвобождении энкефалинов из содержащих эти пептиды окончаний, поэтому данные о влиянии опиоидных пептидов и наркотических анальгетиков на межнейронную передачу возбуждения рассматриваются совместно. При этом указанные вещества нередко объединяют термином "опиаты".

Влияние наркотических анальгетиков и опиоидных пептидов на передачу возбуждения в афферентных системах спинного мозга

Рядом лабораторных и клинических исследований установлено, что при подведении к спинному мозгу наркотические анальгетики и опиоидные пептиды устраняют ноцицептивные реакции у животных и чувствительность к боли у человека (Kuraishi et al., 1980; Yaksh, 1981 и др.). При этом у животных ослабляются как сегментарные ноцицептивные рефлексы, так и сложные поведенческие проявления болевой реакции, например, облизывание лап, регистрируемое при использовании теста горячей пластины, или поведение избегания в условиях метода "тигровой горячей пластины, или поведение избегания в условиях метода "тигровой горячей пластины, или поведение избегания в условиях метода "тигровой горячей пластины, или поведение избегания в условиях метода "тигровой горячей пластины". Пациенты, которым наркотические анальгетики и опиоидные пептиды вводили интратекально или эпидурально для устранения послеоперационной, травматической или вызванной другими причинами боли, а также здоровые добровольцы, участвовавшие в экспериментах, субъективно отмечали выраженное ослабление болевых ощущений. Это позволяет предполагать, что в данном случае опиаты ограничивают поток ноцицептивной импульсации, поступающей к головному мозгу, угнетая межнейронную передачу в афферентных путях на уровне спинного мозга, не вызывая при этом заметного нарушения других видов чувствительности. В естественных условиях выделение опиоидных пептидов из содержащих их окончаний в спинном мозгу под влиянием различных факторов может, очевидно, приводить к разному эффекту антиноцицептивного эффекта. Об этом свидетельствуют эксперименты с применением блокатора опиатных рецепторов налоксона.

Так, при системном введении налоксон устраняет у спинализированных крыс антиноцицептивный эффект электрического раздражения толстых волокон периферического нерва (Woolf et al., 1977). При интратекальном введении налоксон вызывает гипералгезию (Dickenson et al., 1981) и восстанавливает у крыс реакцию отдергивания хвоста, подавленную чрезкожной стимуляцией нерва (Peets, Pomerantz, 1981) или низкочастотной стимуляцией вентромедиальных отделов продолговатого мозга (Zorman et al., 1981).

Вовлечение системы опиятных пептидергических нейронов в процесс регуляции ноцицептивной передачи в спинном мозге подтверждают также данные, полученные в электрофизиологических исследованиях. Так, при ионофоретическом подведении энкефалинов к интернейронам IV-V слоев заднего рога наблюдается угнетение их активности и ослабление импульсации, вызываемой как ноцицептивными, так и неноцицептивными воздействиями, причем налоксон устраняет эффект энкефалинов (Davies, Dray, 1978; Satoh et al., 1980). Более высокая специфичность угнетающего действия пептидов выявляется при их введении в желатинозную субстанцию, где они избирательно устраняют реакцию более глубоко расположенных интернейронов V слоя на ноцицептивные раздражители (Duggan et al., 1982). Дипептид кикторфин, вызывающий у животных анальгезию за счет высвобождения опиоидных пептидов, при ионофоретическом подведении к клеткам V слоя также угнетает их активность и ослабляет реакцию на внутриартериальное введение брадикинина (Satoh et al., 1980). Кроме того, высвобождение опиоидных пептидов на сегментарном уровне может играть роль в развитии анальгезии при электрическом раздражении супраспинальных образований. У крыс, наркотизированных хлоралозой, налоксон не только усиливал ответы интернейронов на электрическое раздражение C-волокон чувствительного нерва, но и ослаблял торможение их активности, вызываемое стимуляцией большого ядра шва (Rivot et al., 1979). Однако, налоксон не блокирует эффект раздражения дорзального ядра шва и ядер шва продолговатого мозга в аналогичных экспериментах на наркотизированных хлоралозой или тиопентал-натрием кошках (Duggan et al., 1981). Спорным остается также вопрос об участии энкефалинергических структур в осуществлении тонического торможения активности интернейронов заднего рога, поскольку налоксон практически не влияет на импульсацию клеток IV-V слоев у кошек с интактным или пересеченным спинным мозгом в условиях наркоза хлоралозой. Однако, в тех же условиях опыта показано, что налоксон может возбуждать интернейроны, активируемые ноцицептивными раздражителями (Henry, 1979). Видимо, характер влияния налоксона на интернейроны определяется их принадлежностью к тем или иным слоям заднего рога (Fitzgerald, Woolf, 1980). Результаты такого рода экспериментов необходимо интерпретировать также с учетом данных, что влияние налоксона на процессы, протекающие в спинном мозгу, определяется уровнем β -эндорфина в плазме крови и зависит поэтому от различных факторов, например, от времени суток, когда проводится эксперимент.

Общая направленность влияния морфиноподобных анальгетиков на межнейронную передачу в спинном мозгу в целом соответствует влия-

нию на нее опиоидных пептидов. Установлено, что при системном введении анальгетики угнетают реакции интернейронов I, IV, V и VI слоев заднего рога на ноцицептивные стимулы и на электрическое раздражение тонких волокон чувствительных нервов (см. Валеев, Игнатов, 1976). В подавляющем большинстве случаев угнетающее влияние морфиноподобных веществ проявляется как в отношении спонтанной, так и вызванной ноцицептивными воздействиями активности (Sato et al., 1980). При микроионофоретическом подведении морфина, меперидина, фентанила и налорфина к телам нейронов, расположенных в I и IV-VI слоях заднего рога, реакция этих клеток на ноцицептивное раздражение кожных покровов ослабляется (опыты на спинализированных кошках). Налоксон, вводимый системно или локально (ионофорез), устранял действие анальгетиков, хотя в последнем случае его эффект был менее выражен. Однако, налоксон, ионофоретически подводимый к телам интернейронов, устранял угнетение, вызываемое внутривенным введением морфина (0,8 мг/кг), меперидина (10-25 мг/кг) и фентанила (10-40 мкг/кг) (Calvillo et al., 1979). Это позволяет считать, что тормозное действие анальгетиков при внутривенном введении обусловлено их воздействием на опиатные рецепторы, расположенные на мембранах нейронов I и IV-VI слоев заднего рога. Более выраженные и специфичные эффекты наблюдаются при введении опиатов в желатинозную субстанцию (Duggan et al., 1981). Морфин, вводимый в желатинозную субстанцию с помощью ионофореза, ослаблял реакции нейронов более глубоких (IV-VI) слоев на ноцицептивное термическое раздражение кожи и не влиял или оказывал минимальное воздействие на спонтанную активность и вызванные реакции в ответ на неболевое раздражение. Эффект морфина устранялся ионофоретически или внутривенно вводимым налоксоном. Подведение морфина непосредственно к нейронам этих слоев во многих случаях приводило к их возбуждению. Напротив, метионин⁵-энкефалинамид угнетал активность этих нейронов как при введении в желатинозную субстанцию, так и при подведении к телам изучаемых клеток IV-VI слоев, причем в последнем случае его активность, судя по величинам ионофоретических токов и длительность действия, была во многих экспериментах выше. Высказывается предположение (Duggan et al., 1981), что рецепторы, чувствительные к морфину, располагаются у окончаний ноцицептивных первичных афферентов, в то время как рецепторы, чувствительные к мет-энкефалину, сконцентрированы на дендритах и соме клеток. Эти и другие данные, полученные при изучении биоэлектрической активности отдельных нейронов I и IV-VI слоев заднего рога, позволяют предполагать, что спинальный компонент болеутоляющего эффекта анальгетиков и опиоидных пептидов заключается в их способности подавлять проведение возбуждения в афферентных структурах спинного мозга.

Влияние наркотических анальгетиков и опиоидных пептидов на биоэлектрическую активность в восходящих путях спинного мозга

Клетки заднего рога функционально гетерогенны и лишь незначительная их часть имеет аксоны, вступающие в восходящие пути. Поэтому большой интерес представляют исследования, в которых спинальный компонент механизма действия опиоидов оценивается по динамике биоэлектрической активности в восходящих путях спинного мозга. При регистрации импульсации, возникающей в аксонах вентролатеральных канатиков спинного мозга, было показано, что при перерезке или холодовом блоке спинного мозга у кошек морфин (0,5–2 мг/кг) уменьшал количество импульсов, вызываемых раздражением А-дельта- и С-волокон. Налоксон устранял эффект морфина. На децеребрированных спинализированных крысах морфин (0,5 мг/кг), петидин (1 мг/кг) и леворфанол (0,5 мг/кг) также угнетают разряды, возникающие в аксонах восходящих трактов при стимуляции С-волокон. Налоксон устранял эффект этих препаратов (Jugna, Heinz, 1979).

Нами изучалось влияние опиоидных пептидов на проведение возбуждения в вентролатеральных путях спинного мозга. Регистрировали макроэлектродами потенциалы, возникающие в вентролатеральных столбах спинного мозга ненаркотизированных спинализированных кошек при электрическом раздражении седалищного нерва (Аляутдин и соавт., 1981). Введение лей- и мет-энкефалина под оболочки спинного мозга и внутривенное применение метаболически устойчивых аналогов энкефалинов тетрапептида (Tyr-DAla-Gly-Phe-NH₂ 25 мг/кг) пентапептида FK-33-824 (Tyr-DAla-Gly-MePhe-Met-OH, 2 мг/кг) характеризовалось понижением площади вызванных ответов. Этот эффект, очевидно, связан с влиянием на опиатные рецепторы, так как полностью устранялся налоксоном. При микроэлектродной регистрации спонтанной и вызванной брадикинином активности в вентролатеральных проводящих путях спинного мозга у спинальных крыс было показано, что после введения под оболочки спинного мозга мет- и лей-энкефалина происходит угнетение разрядов, вызванных внутриартериальным введением брадикинина (Каспаров, 1981). Пентапептид FK-33-824 (0,25 – 1 мг/кг) и тетрапептид (5–15 мг/кг) при внутривенном введении также подавляли вызванную биоэлектрическую активность. Однако, на спонтанную импульсацию в восходящих трактах изученные пептиды в тех же дозах влияли по-разному. Так, FK-33-824 угнетал спонтанную активность в большей степени, чем вызванную брадикинином. Тетрапептид практически одинаково угнетал оба вида активности. Энкефалины оказывали на спонтанную импульсацию фазное влияние, вызывая вначале усиление, которое затем сменялось ее ослаблением. Указанные эффекты пептидов были, по-видимому, обусловлены их влиянием на опиатные рецепторы, чувствительные к налоксону, так как последний устранял и предотвращал их эффекты (рис. 11, 12, 13). В аналогичных экспериментальных условиях морфин, промедол и фентанил угнетают как спонтанную, так и вызванную импульсацию, но угнетение ими спонтанной активности было выражено в большей степени и наступало без предшествующей фазы усиления. В этом отношении эф-

100%

Рис.
спонт
бради
ральн
II – м
FK – 3
+ нал
n = 6
светл
вызва

100%

0

Рис. 12
мозга)
ных пут
в % по
ных в/а
х – р <

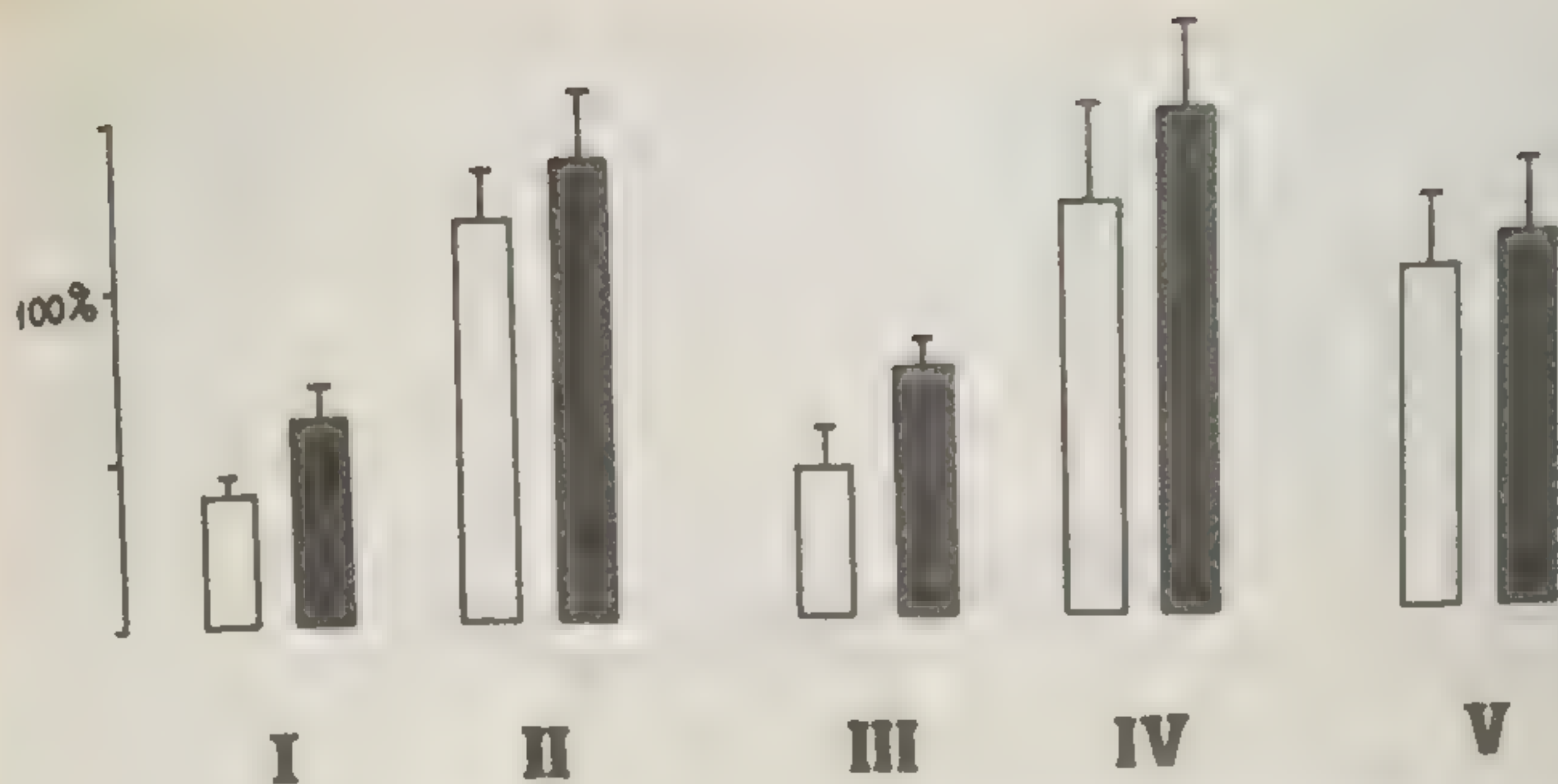


Рис. 11. Влияние морфина, FK-33-824 и налоксона на спонтанную и вызванную внутриартериальным введением брадикинина биоэлектрическую активность в вентролатеральных трактах спинного мозга; I – морфин, 5 мг/кг; II – морфин, 5 мг/кг + налоксон, 0,5 мг/кг; III – FK-33-824, 0,5 мг/кг; IV – FK-33-824, 0,5 мг/кг + налоксон, 0,5 мг/кг; V – налоксон, 1 мг/кг. $M \pm m$, $n = 6$ (в % по отношению к исходным величинам); светлые столбики – спонтанная активность, темные – вызванная внутриартериальным введением брадикинина

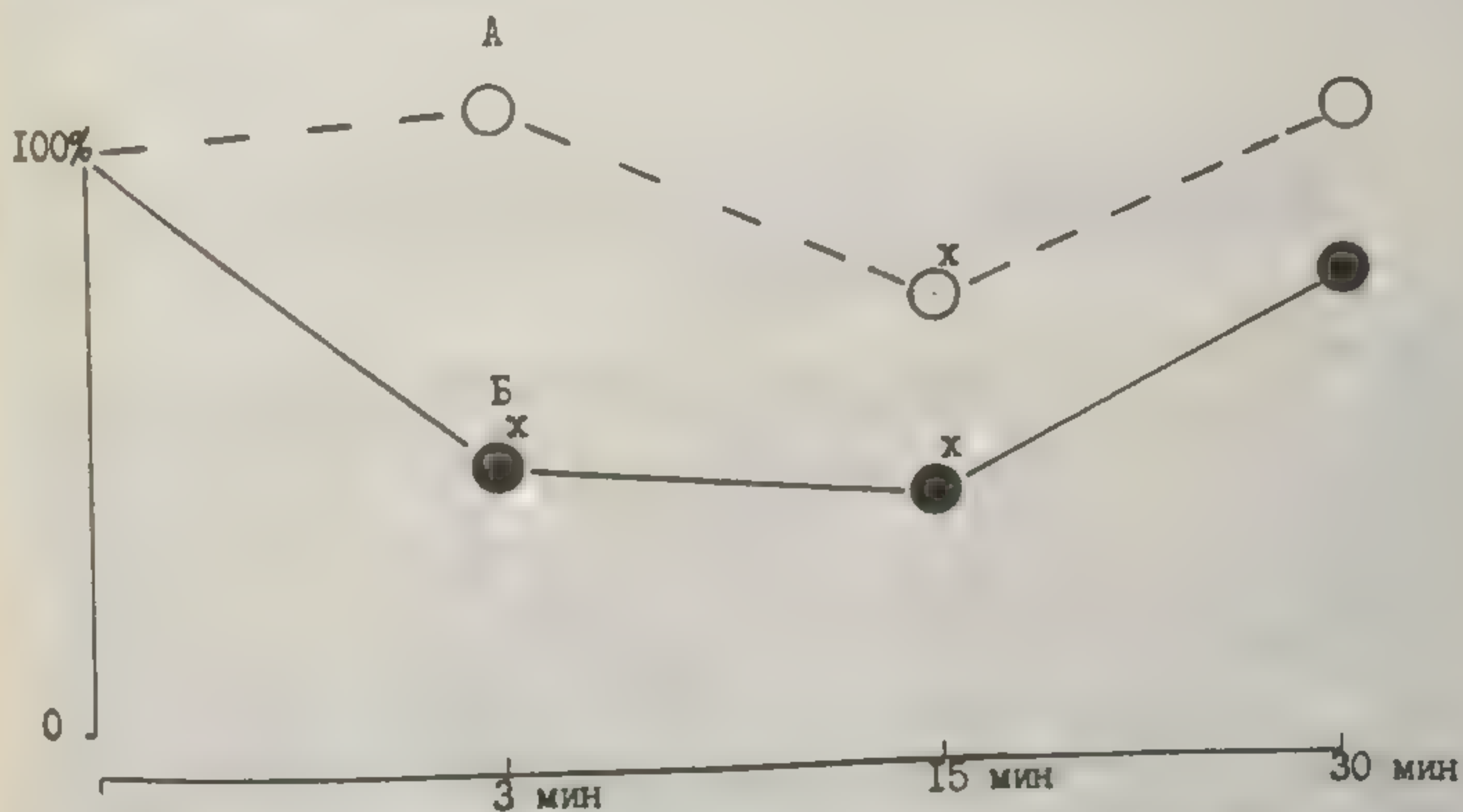


Рис. 12. Влияние мет-энкефалина (200 мкг под оболочки мозга) на биоэлектрическую активность в вентролатеральных путях спинного мозга: А – частота спонтанных разрядов в % по отношению к исходной; Б – частота разрядов, вызванных в/а введением брадикинина в % по отношению к исходной; х – $p < 0,05$

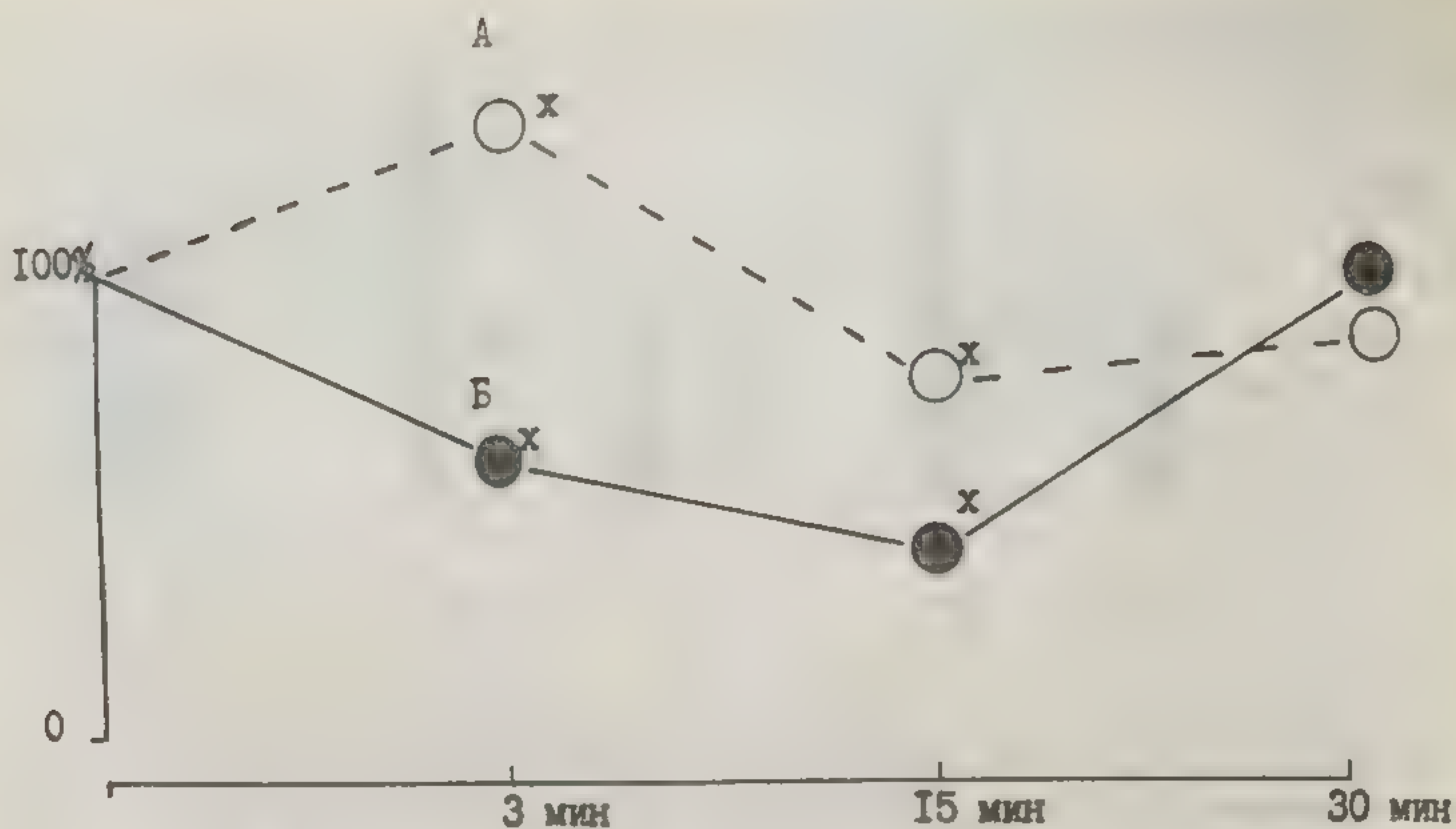


Рис. 13. Влияние лей-энкефалина (200 мкг под оболочки мозга) на биоэлектрическую активность в вентролатеральных путях спинного мозга. Обозначения те же, что и на рис. 12

эффекты указанных анальгетиков были сходны с эффектами FK-33-824. Возможно, что обнаруженные различия в характере влияния морфина и энкефалинов на спонтанную импульсацию могут быть связаны с различной локализацией действия этих веществ в задних рогах спинного мозга.

Пре- и постсинаптический компонент тормозного
влияния опиоидных пептидов и морфиноподобных
анальгетиков

Доказательством пресинаптической локализации опиатных рецепторов в спинном мозгу служат наблюдения об уменьшении их количества (по данным радиолигандного связывания) при перерезке задних корешков (Nincovic et al., 1981) или применении капсаицина (Gamse et al., 1979), а также наличие большого числа участков связывания опиатных лигандов на нейритах культивируемых клеток дорзальных ганглиев (Hiller et al., 1978). На ранних этапах онтогенеза спинной мозг имеет малое количество участков связывания опиатов. Оно нарастает при вращении в спинной мозг отростков заднекорешковых ганглиев, богатых этими участками связывания. С этого момента удается наблюдать устраняемые налоксоном электрофизиологические эффекты морфина. Однако лишь небольшое число аксо-аксональных синапсов в задних рогах спинного мозга содержат иммунореактивный энкефалин (La Motte, Lanerolle, 1981). Косвенным доказательством пресинаптической локализации действия опиоидных пептидов являются данные о

том, что FK-33-824 при внутривенном введении подавляет заднекорешковый потенциал у кошек (Pomerantz, Gurevich, 1979) и что аналогичный эффект вызывают β -эндорфин и DAla²-метионин-энкефалинамид в перфузируемом спинном мозге новорожденных крысят (Suzue, Jessel, 1980). При интерпретации этих данных следует иметь в виду, что негативная волна заднекорешкового потенциала обусловлена, очевидно, возбуждением тонких и в том числе немиелинизированных волокон.

Принципиально роль опиатов как медиаторов аксо-аксональных синапсов, осуществляющих пресинаптический контроль, доказана на модельных экспериментах. Энкефалины блокируют холинергическую передачу, снижая количество высвобождаемого пресинаптической терминалью медиатора, и не изменяют возбудимости постсинаптической мембраны в симпатических ганглиях морской свинки (Konishi et al., 1981). Различные производные энкефалинов, в том числе FK-33-824, угнетают сокращения кишки морской свинки, вызванные электрической стимуляцией, но не блокируют сокращения, возникающие при добавлении в среду субстанции P, являющейся, как предполагают, главным медиатором нехолинергических влияний, стимулирующих двигательную активность кишки свинки (Gintzler, Sealisi 1982). Кроме того, энкефалины *in vitro* угнетают K⁺-зависимое высвобождение субстанции P культивируемыми сенсорными нейронами (Mudge et al., 1979) и изолированными перфузируемыми срезами ядра спинномозговой ветви тройничного нерва (Jessel, Iversen, 1977), причем данный эффект купируется налоксоном. Аналогично опиоидным пептидам, морфин также угнетает высвобождение субстанции P из спинного мозга в спинномозговую жидкость у кошек и крыс *in vivo* (Yaksh et al., 1980). Установлено, что хроническое введение морфина крысам сопровождается повышением уровня иммунореактивной субстанции P в желатинозной субстанции задних рогов спинного мозга (Vacca et al., 1980). Таким образом, можно предполагать, что морфин и опиоидные пептиды могут влиять на проведение ноцицептивной импульсации за счет подавления высвобождения возбуждающего медиатора из первичных афферентов. В то же время этот эффект не является, по-видимому, следствием деполяризации афферентных волокон. Напротив, мет-энкефалин повышает порог антидромной возбудимости C- и A-дельта-волокон, что свидетельствует об их гиперполяризации (Sastry, 1980). Способность мет-энкефалина гиперполяризовать задние корешки при его добавлении в перфузат, омывающий изолированный спинной мозг лягушки, свидетельствует, что именно гиперполяризация, а не стабилизация мембраны терминалей в данном случае, является причиной снижения антидромной возбудимости. Хотя сам мет-энкефалин гиперполяризует первичные афференты, деполяризация, вызываемая раздражением других первичных афферентов, значительно усиливается (Sastry, 1980). В частности, ноцицептивное раздражение (внутриартериальное введение брадикинина) приводит к деполяризации A-дельта-волокон. На этом фоне мет-энкефалин вызывает еще большую деполяризацию, проявляющуюся дальнейшим снижением порога антидромной активации этих волокон. Анальгетики вызывают как гиперполяризацию, так и деполяризацию первичных афферентных волокон (Sastry, 1980;

Suzue, Jessel, 1980). Анализируя полученные результаты авторы упомянутых исследований рассматривают и гипер-, и деполяризацию афферентных волокон как доказательство развивающегося пресинаптического торможения, поскольку отклонение потенциала покоя афферентного волокна в любую сторону от его нормального уровня может приводить к угнетению проведения по нему возбуждения. Допускается, что существует двойкий механизм пресинаптического тормозного действия опиатов: один из них сводится к гиперполяризации покоящихся "тонких" афферентов, что препятствует распространению потенциала действия, другой заключается в усилении взаимного торможения первичных афферентов, которое проявляется потенцированием их деполяризации.

При анализе влияния опиоидных пептидов и наркотических анальгетиков на процессы постсинаптического торможения необходимо учитывать, что в спинном мозгу оно осуществляется аксо-дендритическими и аксо-соматическими синапсами. Наибольший интерес среди постсинаптических тормозных элементов представляют тормозные синапсы на клетках I и IV-VI слоев. Тонкие первичные афференты заканчиваются главным образом на дендритах, а аксоны клеток желатинозной субстанции, которые рассматриваются как propriospinalные тормозные элементы, образуют в основном аксо-соматические контакты с клетками I слоя. Окончания, содержащие иммунореактивный энкефалин, образуют варикозные расширения вокруг клеточных тел и проксимальных дендритов нейронов спиноталамического тракта, лежащих в V слое заднего рога спинного мозга кошек (La Motte, de Lanerolle, 1981). Разрушение капсаицином тонких немиелинизированных волокон и перерезка задних корешков сопровождается лишь частичной утратой спинным мозгом участков связывания опиатов, а большая часть этих участков в таких условиях сохраняется (Guamse et al., 1979). Эти данные свидетельствуют о наличии постсинаптических опиатных рецепторов в спинном мозгу, однако данные о постсинаптическом действии опиоидных пептидов в спинном мозгу весьма ограничены.

О постсинаптическом характере влияния веществ в спинном мозгу обычно судят по их способности вызывать гиперполяризацию нейронов в условиях внутриклеточной микроэлектродной регистрации и ионофоретическом подведении веществ к нейронам, а также по снижению возбудимости нейронов в ответ на ионофоретическое подведение стимулирующих их веществ (глутамата, гомоцистеата и др.). Кроме того, постсинаптическое торможение может проявляться изменениями проводимости мембраны нейрона и понижением скорости нарастания возбуждающих постсинаптических потенциалов. Установлено, что мет- и лей-энкефалины при ионофоретическом подведении к интернейронам спинного мозга устраняют не только вызванную периферическими стимулами импульсацию интернейронов, но и их активность, вызванную глутаматом. При этом амплитуда и форма потенциалов действия, а также потенциал и сопротивление покоящейся мембраны не изменяется. В то же время, деполяризация мембраны и увеличение ее проводимости, вызываемое глутаматом, ослабляется (Zieglgänsberger, Tulloch, 1979). Методом внутриклеточной регистрации потенциалов нейронов заднего рога в срезах спинного мозга новорожденных крыс показано, что мет-энкефалин и его Dala²-аналог гиперполяризуют нейроны заднего рога и понижа-

...и лозности
...1982). Гиперполяри-
...связалась со сни-
...также
...механизме угнетения
...афферентного
...что наркоти-
...глутамата
...et al., 1979).
...показан
...мембраны и
...возбуждающих по-
...данный эффек-

Влияние опиоидных пептидов на propriospinalное торможение

Появившиеся в литературе данные о влиянии опиоидных веществ на propriospinalное торможение в спинном мозгу весьма ограничены. В основном это связано с тем, что в спинном мозгу отсутствуют опиоидные рецепторы. Однако в некоторых случаях, например, при введении опиоидных веществ в спинномозговую жидкость, наблюдается угнетение propriospinalного торможения (Zieglgänsberger, 1982). В некоторых случаях, например, при введении опиоидных веществ в спинномозговую жидкость, наблюдается угнетение propriospinalного торможения (Zieglgänsberger, 1982). В некоторых случаях, например, при введении опиоидных веществ в спинномозговую жидкость, наблюдается угнетение propriospinalного торможения (Zieglgänsberger, 1982).

ют или полностью блокируют спонтанную импульсацию (Murase et al., 1982). Гиперполяризация, вызванная энкефалинами во всех случаях сочеталась со снижением сопротивления мембраны нервной клетки. Получены также данные о наличии постсинаптического компонента в механизме угнетающего влияния морфиноподобных препаратов на передачу афферентного возбуждения в спинном мозгу. В частности, обнаружено, что наркотические анальгетики блокируют возбуждающее действие глутамата на нейроны I и IV-VI слоев заднего рога (Calvillo et al., 1979). При внутриклеточном отведении активности интернейронов показано, что наркотические анальгетики не изменяют потенциал мембраны и ее сопротивление, но замедляют скорость нарастания возбуждающих постсинаптических потенциалов, причем налоксон устраняет данный эффект (Zieglgänsberger, Bayerl, 1976).

Влияние опиоидных пептидов и наркотических анальгетиков на проприоспинальные тормозные ГАМК-ергические системы

Появившиеся в последние годы сведения о влиянии ГАМК-ергических веществ на антиноцицептивный эффект наркотических анальгетиков и опиоидных пептидов, свидетельствуют о наличии ГАМК-ергического звена в механизме действия опиатов. Показано, что конформационно стабильный аналог ГАМК THIP обладает болеутоляющим эффектом, проявляющимся как в опытах на различных видах лабораторных животных, так и в клинических условиях (Maugh, 1981; De Feudis, 1982). ГАМК-миметик мусцимол в экспериментах на различных видах лабораторных животных также обладает антиноцицептивным действием (Lieberman et al., 1980). Согласно наблюдениям В.В.Закусова и соавт. (1982) ГАМК-миметические вещества усиливают антиноцицептивный эффект анальгетиков фенантренового ряда (морфина, дикодида), а блокатор ГАМК-рецепторов бикикуллин его ослабляет. Однако, согласно другим данным мусцимол не изменяет анальгетического эффекта морфина или ослабляет этот эффект. Полученные в этих работах данные не дают возможности судить о том, какие структуры ЦНС принимают участие в реализации антиноцицептивного эффекта ГАМК-миметических веществ. Имеются основания предполагать, что он может быть связан с влиянием на спинной мозг и, в частности, на его афферентные проводящие пути. Блокаторы рецепторов ГАМК усиливают ответы нейронов IV-VI слоев заднего рога на электрическое раздражение С-волокон нерва (Duggan et al., 1981), причем данный эффект проявляется у спинальных животных в той же степени, как и при сохранении целостности ЦНС и, очевидно, не связан с активностью нисходящих тормозных влияний. Предполагается, что некоторые эффекты опиатов на сегментарном уровне могут быть связаны с высвобождением ГАМК из ГАМК-ергических окончаний. В частности, ГАМК может участвовать в пресинаптическом торможении передачи возбуждения наркотическими анальгетиками. В наших экспериментах с антагонистами ГАМК пикротоксином и бикикуллином были получены результаты, подтверждающие участие

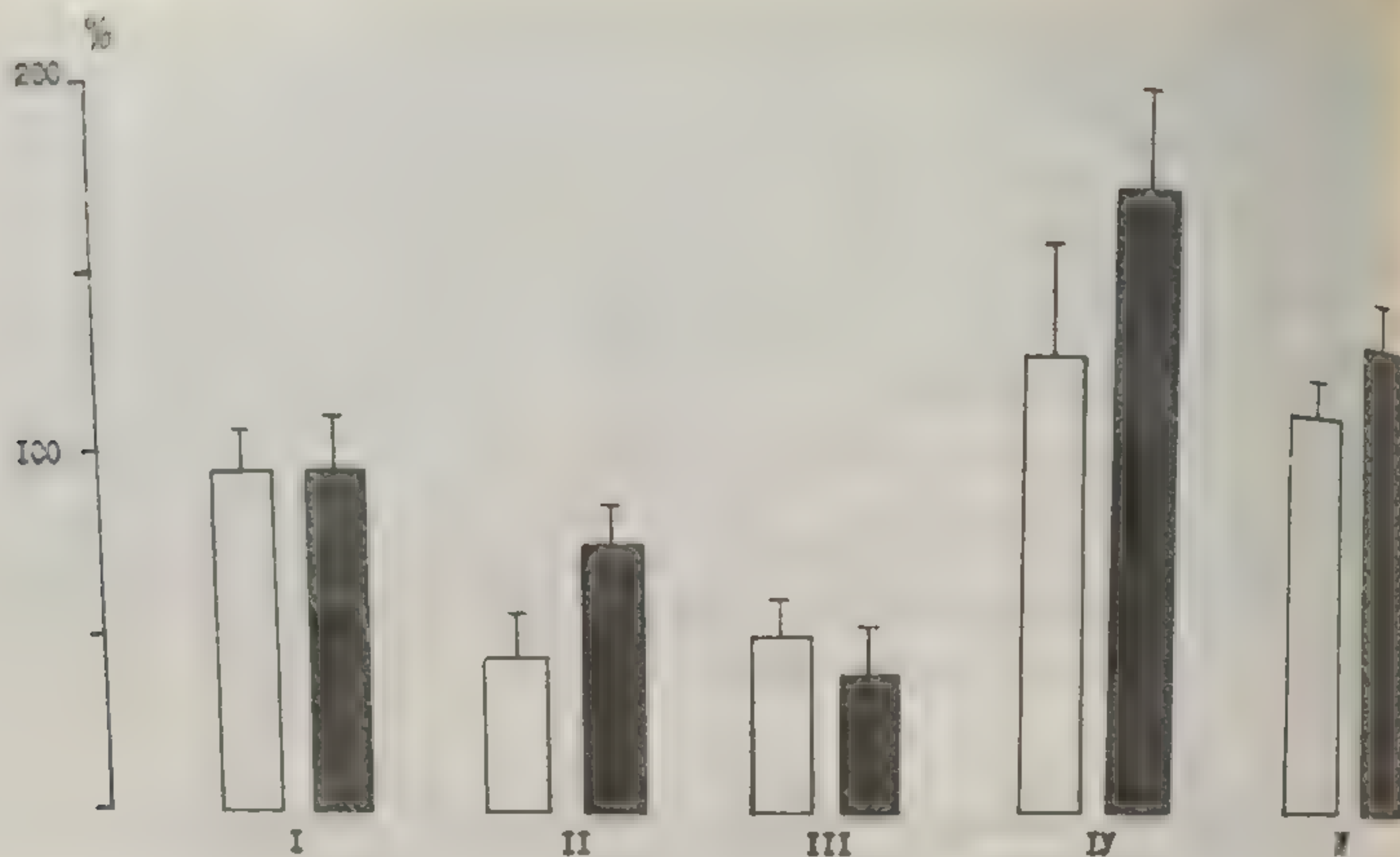


Рис. 14. Влияние мусцимола, FK-33-824 и налоксона на спонтанную и вызванную введением брадикинина импульсацию в вентролатеральных путях спинного мозга: I – мусцимол, 1 мг/кг; II – FK-33-824, 0,5 мг/кг; III – мусцимол, 1 мг/кг + FK-33-824, 0,5 мг/кг; IV – FK-33-824, 0,5 мг/кг + налоксон, 1 мг/кг; V – мусцимол, 1 мг/кг + FK-33-824, 0,5 мг/кг + налоксон, 1 мг/кг. Остальные обозначения те же, что и на рис. 11

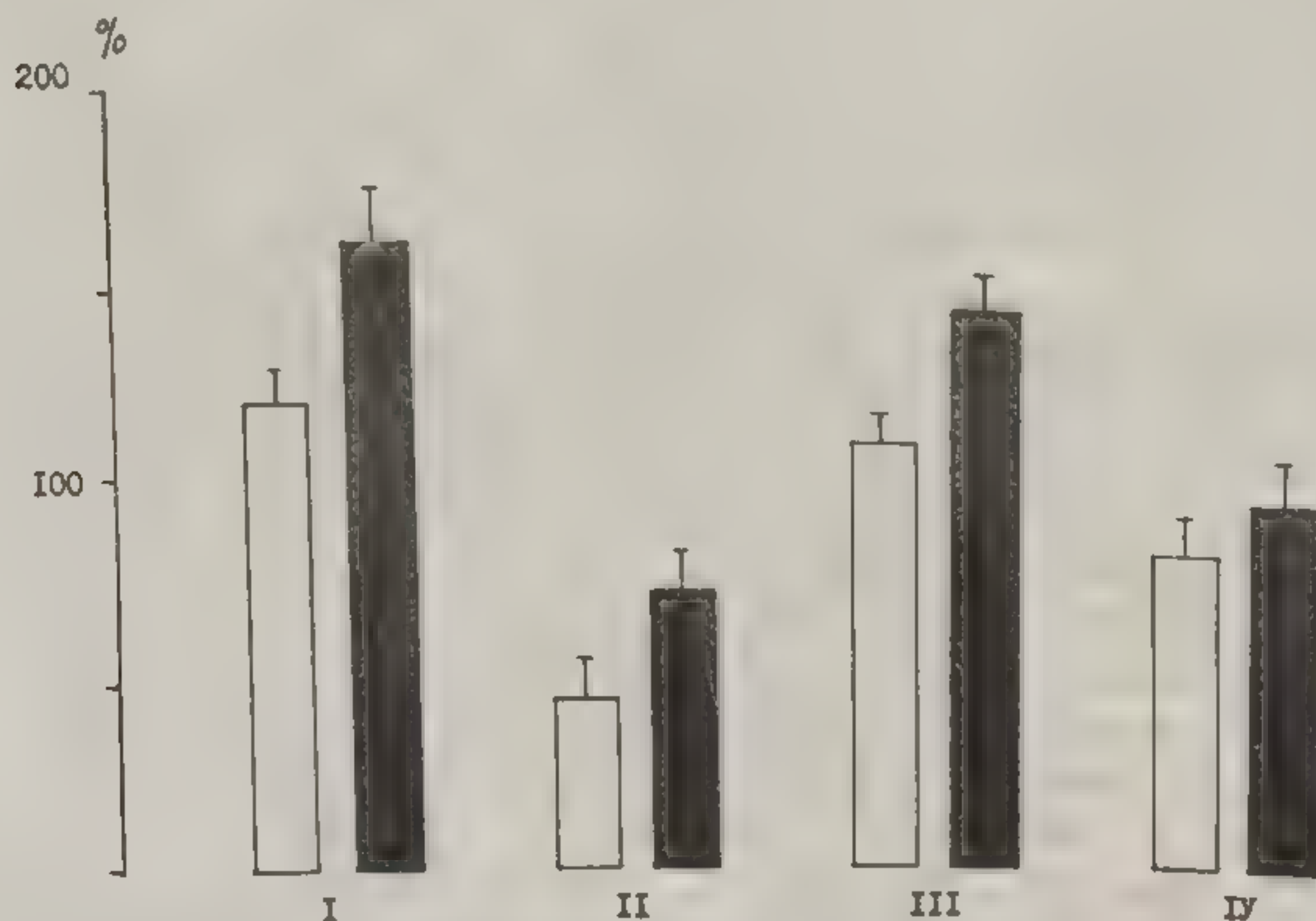


Рис. 15. Влияние пикротоксина и FK-33-824 на спонтанную и вызванную в/а введением брадикинина импульсацию в вентролатеральных путях спинного мозга: I – пикротоксин, 2 мг/кг; II – FK-33-824, 0,5 мг/кг; III – пикротоксин, 2 мг/кг + FK-33-824, 0,5 мг/кг; IV – FK-33-824, 0,5 мг/кг + пикротоксин, 2 мг/кг; Остальные обозначения те же, что и на рис. 11

ГАМК в регуляции
в афферентных
лизированных к
зах значительны
активность и в
риментах, выпо
кошках (Аляут
дение под обол
ГАМК-ергическ
ных электричес
гистрируемых
мозга. Такое
импульсацию в
поступающих по
образованиям,
роны проприосп
ляется ГАМК.

ным воздействи
токсина и бенз
резкой гиперал
ного мозга, на

Нами обнару
щей у крыс оп
изменения, ока
наблюдений уг
нием брадикини
В то же время
угнетающее вл
ную брадикини
действия указ
опиатов осуще
ких структур
морфина и FK
торов ГАМК п
морфина и FK
тивность. Дан
менении, так
также подтвер
опиатов на ме
мозга (рис. 1

Приведенны
ды и наркотич
межнейронную
Это проявляет
которую они
так и пост
нии тормо
ния в во

ГАМК в регуляции межнейронной передачи ноцицептивного возбуждения в афферентных путях спинного мозга. У ненаркотизированных спинализированных крыс пикротоксин и бикукуллин в субсудорожных дозах значительно усиливают вызванную брадикинином биоэлектрическую активность и в меньшей степени — спонтанную импульсацию. В экспериментах, выполненных на ненаркотизированных спинализированных кошках (Аляутдин, Каспаров, 1981), было также показано, что введение под оболочки спинного мозга бензилпенициллина, угнетающего ГАМК-ергическую передачу, достоверно увеличивает площадь вызванных электрическим раздражением седалищного нерва потенциалов, регистрируемых макроэлектродом в вентролатеральных путях спинного мозга. Такое влияние блокаторов ГАМК-рецепторов на ноцицептивную импульсацию в афферентных путях подтверждает, что поток импульсов, поступающих по афферентным путям спинного мозга к супраспинальным образованиям, находится под тоническим тормозным контролем со стороны проприоспинальной тормозной системы, медиатором в которой является ГАМК. Глубокое угнетение этой системы, достигаемое локальным воздействием на спинной мозг антагонистов ГАМК, столбнячного токсина и бензилпенициллина сопровождается у крыс возникновением резкой гиперальгезии в зоне, иннервируемой теми сегментами спинного мозга, на которые наносили эти вещества (Графова и соавт., 1979).

Нами обнаружено, что ГАМК-миметик мусцимол в дозе, вызывающей у крыс определенные поведенческие и электрофизиологические изменения, оказывает слабое, недостоверное при имеющемся числе наблюдений угнетающее влияние на спонтанную и вызванную применением брадикинина импульсацию в афферентных путях спинного мозга. В то же время, предварительное введение мусцимола потенцировало угнетающее влияние морфина и пентапептида FK-33-824 на вызванную брадикинином активность (рис. 14). Подобный характер взаимодействия указывает, по-видимому, на то, что тормозное действие опиатов осуществляется в данном случае при участии ГАМК-ергических структур спинного мозга. Мусцимол, однако, не усиливал влияния морфина и FK-33-824 на спонтанную импульсацию. Блокаторы рецепторов ГАМК пикротоксин и бикукуллин существенно ослабляли влияние морфина и FK-33-824 на спонтанную и вызванную брадикинином активность. Данный эффект проявлялся как при их предварительном применении, так и при введении на фоне развития эффекта опиатов. Это также подтверждает участие ГАМК в реализации тормозного действия опиатов на межнейронную передачу в афферентных путях спинного мозга (рис. 15).

* * *

Приведенные сведения позволяют заключить, что опиоидные пептиды и наркотические анальгетики обладают способностью угнетать межнейронную передачу возбуждения уже на уровне спинного мозга. Это проявляется и в отношении передачи афферентных стимулов, на которую они также оказывают угнетающее влияние, действуя как пре-, так и постсинаптически. Кроме того, установлено, что в осуществлении тормозного влияния опиатов на проведение афферентного возбуждения в восходящих путях спинного мозга принимает участие ГАМК.

ЦЕНТРАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДЕРМОРФИНА

Ф.Алоизи, Ф.Пассарелли, А.Скотти де Каролис,
В. Дж. Лонго

Исследованиями *Ergsparm* и его сотрудников выделено и идентифицировано более 30 пептидов из кожи амфибий, большинство из которых было воспроизведено путем синтеза. В их число входит дерморфин ($\text{Tyr-DAla-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH}_2$) — гептапептид из кожи лягушки *Phyllomedusa Sauvagei*, обладающий периферической и центральной активностью опиатного типа. Фармакологические исследования (*Ergsparm, Melchiorri, 1980*) выявили сильное угнетающее действие дерморфина на стимулируемые электрическим током сокращения подвздошной кишки морской свинки и препарата *vas deferens* мышей, в несколько раз превосходящее действие естественных энкефалинов, β -эндорфина и морфина. При изучении анальгезии *in vivo* (тест горячих пластинок и отдергивания хвоста) у мышей (внутривенное введение) и крыс (внутрижелудочковое введение) дерморфин оказывался активнее морфина в 11 и 752 раза, соответственно. Введение дерморфина в желудочки мозга крыс приводит к развитию толерантности, а введение налоксона вызывает синдром отмены. И толерантность, и физическая зависимость меньше выражены у дерморфина, чем у морфина. Кроме того, действие препарата довольно продолжительно, благодаря его устойчивости к ферментному гидролизу, вследствие присутствия остатка D-Ala^2 в его молекуле.

Мы исследовали воздействие дерморфина на биоэлектрическую активность мозга (ЭЭГ) и поведение кроликов, крыс и мышей. Естественный и синтетический дерморфин использовали в растворе, содержащем 50–60% этанола, который выпаривали в вакууме на вращательном ускорителе. Остаток растворяли в свежеприготовленном физиологическом растворе. Пептид вводили внутрижелудочно в объеме, не превышающем у кроликов 40 мкл, у крыс — 20 мкл. Контролем служили соответствующие объемы физиологического раствора. Животные получали препарат с интервалом 8–10 дней с целью уменьшения возможности развития толерантности. Каждое животное получало препарат 2–4 раза.

Исследование влияния дерморфина на ЭЭГ и поведение у кроликов

Для регистрации ЭЭГ использовано 12 взрослых кроликов (2,8 – 3,2 кг) с хронически вживленными электродами (эпидурально на поверхность коры и в гиппокамп). В боковые желудочки мозга вживляли канюлю (по методу *Aloisi et al., 1980*). Через 7–10 дней после операции животных помещали в экранированную камеру (1 м × 1 м × 0,65 м). Electroды подсоединяли с помощью гибких проводов, что позволяло животным свободно передвигаться. Регистрация осуществлялась 8-канальным электроэнцефалографом (*Gallileo, E-1013*). Одновременно с регистрацией ЭЭГ оценивали поведенческие проявления: реакцию на болевое воздействие (зажатие уха), на слуховую и

тактильную стимуляцию, а также ригидность и кататонию (по фиксации не менее 30 с заданной позы с помещением задних лап на ящик высотой 15 см).

При внутрижелудочковом введении 0,05 мкг дерморфина ни на ЭЭГ, ни в поведении не было отмечено никаких заметных изменений. От более высоких доз (0,1; 0,2; 0,5 мкг) развивался период десинхронизации (15-25 мин), в течение которого у животных наблюдался мидриаз, экзофтальм, отсутствие спонтанных движений и потеря реакции на болевые стимулы. Эта фаза сменялась фазой синхронизации ЭЭГ, сопровождающейся мышечной ригидностью. При увеличении дозы дерморфина до 1,0 мкг длительность синхронизации ЭЭГ увеличивалась до максимума 60-90 мин, отмечалось небольшое снижение амплитуды и частоты тета-волн гиппокампа. Реакция пробуждения ЭЭГ была ослаблена. Во всех случаях (а часто до появления синхронизации), наблюдалась парадоксальная ЭЭГ-реакция; при заземлении уха на ЭЭГ появлялись медленные волны, исчезающие при окончании стимуляции. Дерморфин в дозах 2,5 и 5,0 мкг (рис. 16) в течение нескольких минут вызывал появление синхронизации ЭЭГ с медленными волнами высокой амплитуды в корковых отведениях и полное нарушение тета-волн в гиппокампе. Реакция пробуждения ЭЭГ часто подавлялась. У животных наблюдалась отчетливая ригидность мышц, кататония и потеря реакции выпрямления. Эти эффекты наблюдались в течение 3-4 ч. При увеличении дозы до 10 мкг появлялись медленные волны в течение 10 - 20 мин; в этот период реакцию активации вызвать не удавалось. Тетаритм в гиппокампе полностью отсутствовал. Изменение поведения было гораздо более интенсивным и длительным (примерно 5-6 ч). Более высокие дозы, 20 и 30 мкг, приводили к гибели некоторых животных. Смерть наступала на 1-2-й день после введения, ей предшествовал вялый паралич задних конечностей. Высокие дозы приводили также к появлению редких, спайкоподобных комплексов на ЭЭГ.

На 6 кроликах действие дерморфина изучено при локальной аппликации на область сенсомоторной коры. Трепанация черепа осуществлялась предварительно под эфирным наркозом. Использовались бумажные фильтры, пропитанные раствором дерморфина (0,5; 1,0; 2,0%) и морфина (0,5 и 1,0%), сохранявшиеся *in situ* в течение всего эксперимента. Животных помещали в ящик, ограничивающий движения. Электрическую активность открытого участка коры регистрировали поверхностными серебряными электродами, а других участков - посредством винтовых эпидурально вживленных электродов. Аппликация дерморфина на поверхность сенсомоторной коры в концентрации 0,5; 1,0 и 2,0% вызывала появление сильно дезорганизованной активности, состоящей исключительно из медленных волн; моторных или ЭЭГ судорожных проявлений при этом не наблюдалось. Морфин (0,5-1%) вызывал появление спайковой активности, отставленной по времени на 10-20 мин. Клонические движения морды животного наблюдались синхронно со спайками. Спайковая активность была локализована сначала в той части коры, которая подвергалась воздействию, а затем распространялась на другие отделы, что приводило в ряде случаев к генерализованным судорогам. Налоксон в дозах 0,25, 0,5 и 1,0 мг/кг при внутри-

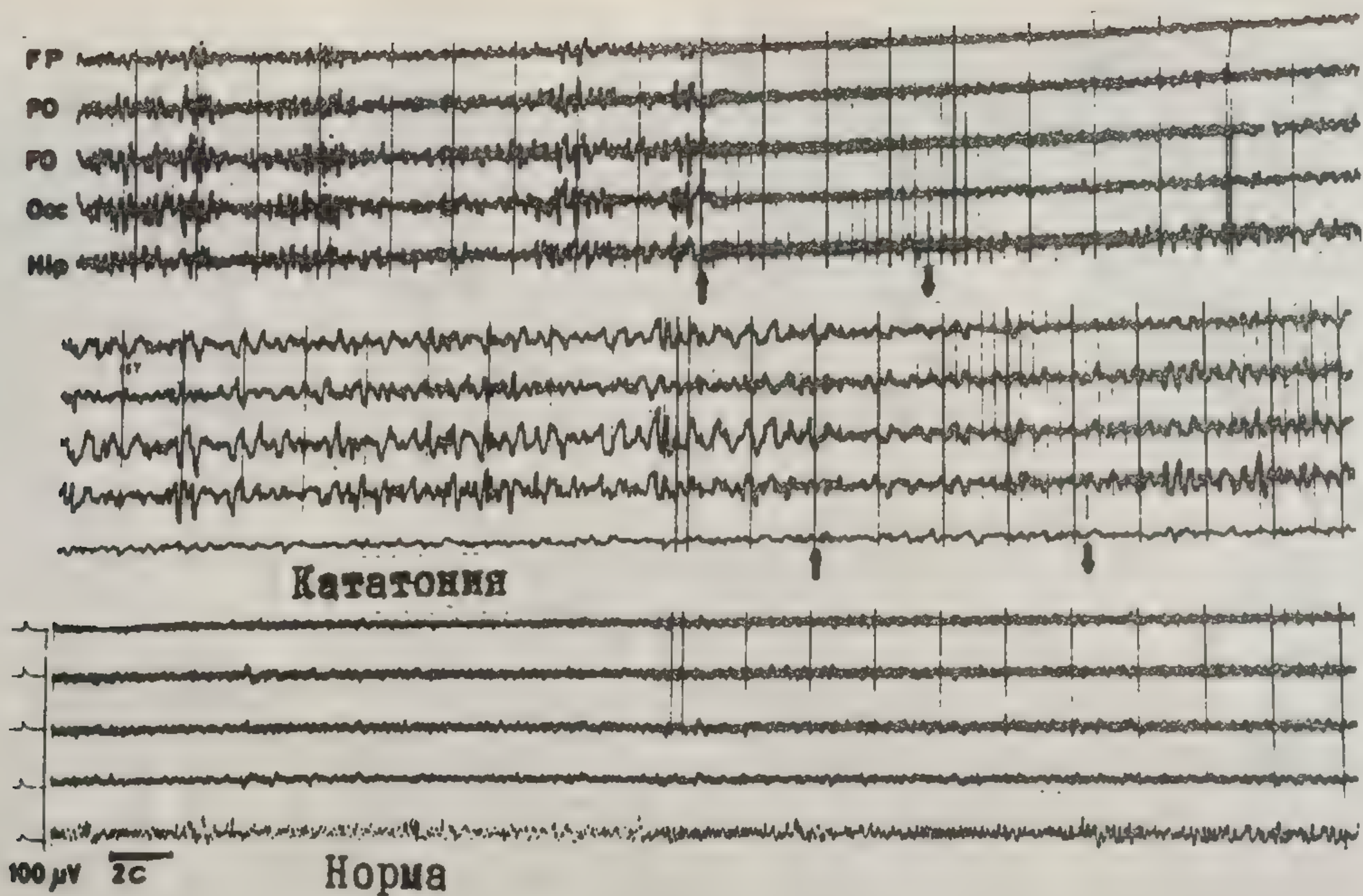


Рис. 16. Влияние дерморфина при введении в боковой желудочек мозга кролика на ЭЭГ. Антагонистическое действие налоксона. Верхняя запись: контроль, акустическая стимуляция (стрелки) вызывает активацию ЭЭГ. Средняя запись: через 40 мин после введения дерморфина (5 мкг) наблюдается синхронизация ЭЭГ с медленными компонентами, тета-волны нарушены, реакция активации блокирована. Нижняя запись: налоксон (0,25 мг/кг в/в) через 2 мин вызывает полное восстановление ЭЭГ и поведения. Отведения: FP – сенсомоторная кора (передние и задние отделы); PO – задний отдел сенсомоторной коры и зрительная кора; FO – передний отдел сенсомоторной коры и зрительная кора; Ocs – зрительная кора; Hip – гиппокамп

введенном введе
там дерморфина
кратковременн
ше дозы дер
Представит
гории (Aloisi
у кроликов и
скопство с и
структурных
кефалинами
морфина и де
тревожное по
тупает типич
время как де
супорожной
ление в данн
кашей дермс
по компонент
время как м
приводит к т

Исследован

Исследов
Вистар. Пре
для отведен
токсического
местоположе
лупочка, вво
менно с ЭЭГ
хвоста), слу
сация позы
Немедлен
ко минут по
биоэлектрич
длительност
дозы вызыв
тонико-клон
возникали
перикали
Во всех слу
давления
порожной ф
наблюдател
у животных
и мидриаз,
явился в

венном введении антагонизировал всем ЭЭГ- и поведенческим эффектам дермофина. Антагонистический эффект налоксона (1 мг/кг) был кратковременным (10-20 мин), если предварительно вводились большие дозы дерморфина (20-30 мкг).

Представленные данные и более ранние исследования нашей лаборатории (Aloisi et al., 1980), показывают, что дерморфин вызывает у кроликов изменения ЭЭГ и поведения, которые имеют существенное сходство с изменениями, наступающими под влиянием некоторых структурных аналогов мет-энкефалина (FK-33824 и D-Ala²-энкефалинамида). Однако обнаружены различия при сравнении эффектов морфина и дерморфина. Морфин (внутрижелудочно 25 мкг) вызывает тревожное поведение и десинхронизацию ЭЭГ, вслед за которыми наступает типичная картина "большого эпилептического припадка", в то время как дерморфин, подобно синтетическим энкефалинам, не вызывает судорожной активности. Эти результаты получают дальнейшее подтверждение в данных, полученных в остром эксперименте с локальной аппликацией дерморфина на поверхность сенсомоторной коры кролика. Вплоть до концентрации 2% пептид не вызывал судорожной активности, в то время как морфин при локальной аппликации в концентрациях 0,5-1,0% приводит к появлению спайковой активности.

Исследование действия дерморфина на биоэлектрическую активность мозга и поведение у крыс

Исследования проведены на 12 крысах-самцах (250-350 г) линии Вистар. Предварительно в поверхность коры вживляли 4 электрода для отведения ЭЭГ. В первый желудочек мозга по координатам стереотоксического атласа (Groot, 1959) вживлялась канюля (контроль местоположения канюли осуществляли по наличию туши в полости желудочка, вводимой непосредственно перед забоем животных). Одновременно с ЭЭГ регистрировали поведенческие реакции на боль (зажим хвоста), слуховой и тактильный стимул, ригидность и кататонию (фиксация позы с помещением лап на планку высотой 7 см).

Немедленно после внутрижелудочкового введения (или через несколько минут после) дерморфин в дозах от 0,005 до 2,5 мкг вызывал биоэлектрические проявления большого судорожного припадка (рис.17), длительность которого была пропорционально введенной дозе. Малые дозы вызывали подергивания и слабый тремор, а более высокие - тонико-клонические судороги. Вслед за судорожным приступом ЭЭГ возникали медленные волны высокой амплитуды, которые прерывались периодами десинхронизации ЭЭГ со случайно разбросанными спайками. Во всех случаях реакция arousal в ответ на внешнюю стимуляцию подавлялась, но отмечалась "парадоксальная реакция ЭЭГ". В послесудорожной фазе, вызванной низкими дозами дерморфина, у животных наблюдалась гиперреактивность. При введении больших доз дерморфина у животных подавлялись спонтанные движения, развивались экзофтальм, мидриаз, ригидность и кататония. Изменения ЭЭГ и поведения сохранялись в течение 30 мин от наиболее низкой дозы (0,005 мкг), и в

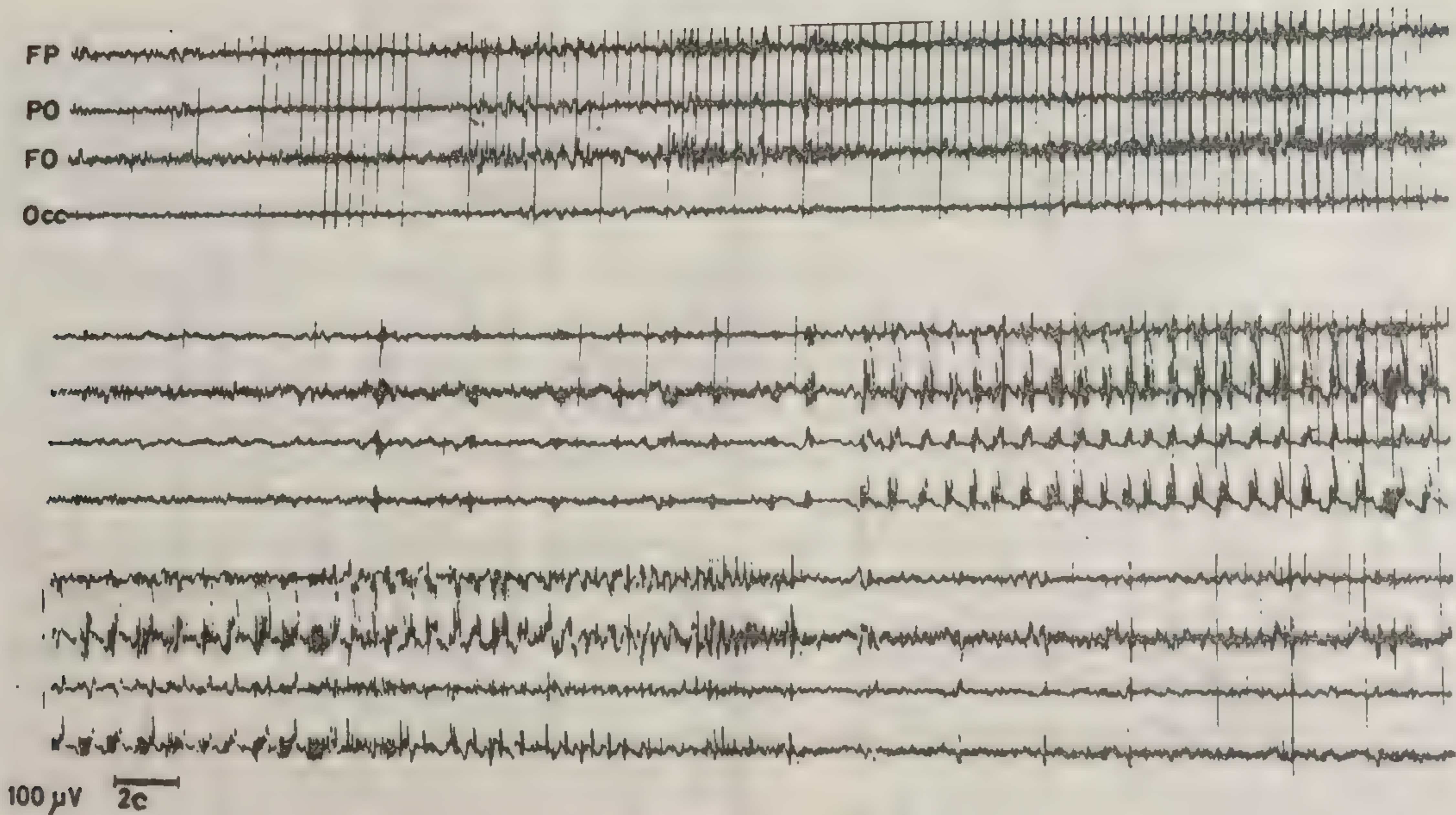


Рис. 17. Влияние дерморфина при введении в боковой желудочек мозга крысы на ЭЭГ. Верхняя запись: контрольная ЭЭГ. Средняя и нижняя записи: через 15 мин после дерморфина (0,005 мкг) в записи появляются спайковые вспышки. Подергивания и тремор сопровождают изменения электрической активности. Отведения: FP – сенсомоторная кора (передние и задние отделы); PO – задний отдел сенсомоторной коры и зрительная кора; FO – передний отдел сенсомоторной коры и зрительная кора; Осс – зрительная кора.

несколько раз
2,5 мкг
животных
полностью
морфина вводил
Дерморфин не
при введении
D-Ala²
морфина по опиоидным
рецепторам и с
морфина и с
FK-33824 не
вызывает
тех же
наши результаты
эпилептические
шклов он не проявлял
действия на этих
данные (L
ваимодействие
рецепторами. На
дельта-рецепт
тов в отношении
жить, что мно-ре
в то время как
кого и поведенче
и, 1981). Ст
так дерморфина,
ишем дерморфина
крыс дерморфин
дельта-рецептора
кой активности)
предпочтительно
ность и отсутст
дается тем факт
ваются эффекти
фина у крыс в

Ис
В эксперименте
1957) в объеме
10 мин в
Шт
В р
с кор

Рис. 17. Влияние дерморфина при введении в боковой желудочек мозга крысы на ЭЭГ. Верхняя запись: контрольная ЭЭГ. Средняя и нижняя записи: через 15 мин после дерморфина (0,005 мкг) в запись появляются спайковые всплески. Попергивания и тремор сопровождаются изменениями электрической активности. Ответы: РР — сенсомоторная кора (перенос и запись отдален); РО — задний отдел; РД — передний отдел.

течение нескольких часов (6-8) — от наиболее высоких доз препарата. Доза 2,5 мкг вызывала отчетливую гипотермию, подавление дыхания и гибель животных в течение 24 ч. Для нейтрализации эффекта дерморфина полностью или на короткое время крысам необходимо было повторно вводить налоксон в дозах 0,5 и 1 мг/кг.

Дерморфин непосредственно после введения в желудочки мозга крыс вызывает эпилептические явления. Аналогичное действие развивается при введении морфина и мет-энкефалина (Ugca et al., 1977), морфина и D-Ala²-энкефалинамида (Torella et al., 1978). Однако дерморфин по эпилептогенному эффекту в 2500 и 10000 раз активнее морфина и естественных энкефалинов. Синтетический пептид FK-33824 несколько активнее, чем дерморфин: изменения ЭЭГ и поведение, вызываемые FK-33824, интенсивнее и длительнее, чем при введении тех же доз дерморфина.

Наши результаты свидетельствуют, что дерморфин вызывает у крыс эпилептические явления на ЭЭГ и в поведении, в то время как у кроликов он не проявляет судорожного действия. Причина различного воздействия на этих животных остается пока невыясненной. Фармакологические данные (Lord et al., 1977), указывают на преимущественное взаимодействие морфина с мю-рецепторами, а энкефалинов с дельта-рецепторами. Налоксон слабо антагонизирует воздействию энкефалинов на дельта-рецепторы, но является специфическим антагонистом опиатов в отношении мю-рецепторов (Kosterlitz, 1979). Можно предположить, что мю-рецепторы опосредуют анальгетическое действие опиатов, в то время как дельта-рецепторы связаны с реализацией эпилептического и поведенческого эффектов (Goodman et al., 1980; Lewis et al., 1981). Следовательно, можно допустить, что различия в эффектах дерморфина, наблюдаемые у крыс и кроликов, обусловлены связыванием дерморфина с различными типами опиатных рецепторов ЦНС. У крыс дерморфин видимо, в равной степени связывается и с мю- и с дельта-рецепторами (как при анальгетической, так и при эпилептической активности), в то время как у кроликов он может действовать предпочтительно на мю-рецепторы (большая анальгетическая активность и отсутствие эпилептических явлений). Эта гипотеза подтверждается тем фактом, что налоксон в дозах, которые неизменно оказываются эффективными у кроликов, не антагонизируют влияние дерморфина у крыс в тех же дозах.

Исследование эффекта дерморфина у мышей

В экспериментах использовано 450 мышей-самцов (20-25 г) линии Swiss. Дерморфин вводили интрацеребрально (по Hayley, McCormich, 1957) в объеме 10 мкл группам по 5 животных. Сразу после введения мышей помещали в камеру для наблюдения (32 × 32 см), и каждые 10 мин в течение первого часа регистрировали число побегов и реакцию Штрауба (по поднятию хвоста до 90° или выше).

В дозах 0,01; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 мкг дерморфин увеличивал число мышей с положительной реакцией Штрауба (по сравнению с контролем — введение 10 мкл физиологического раствора). Стати-

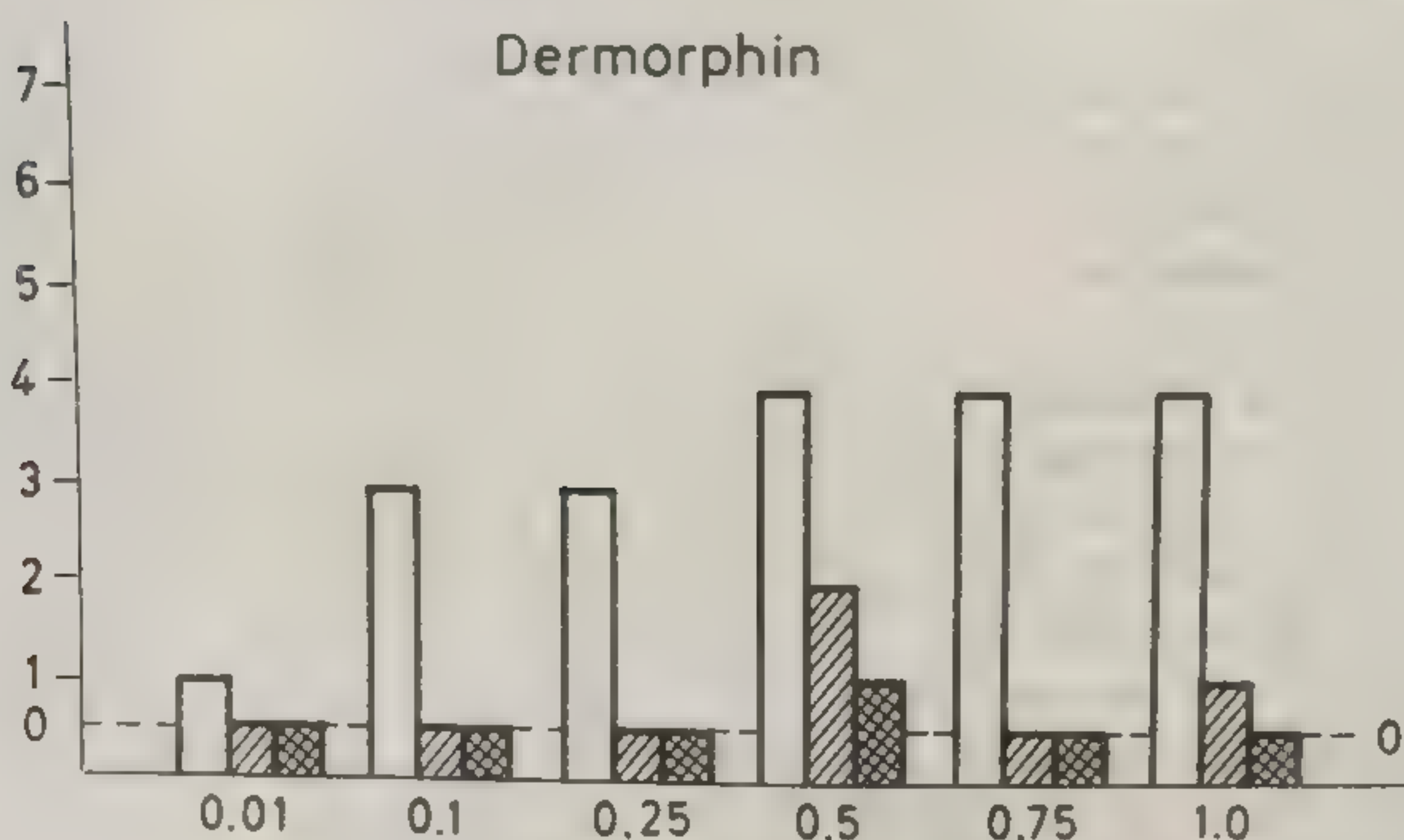
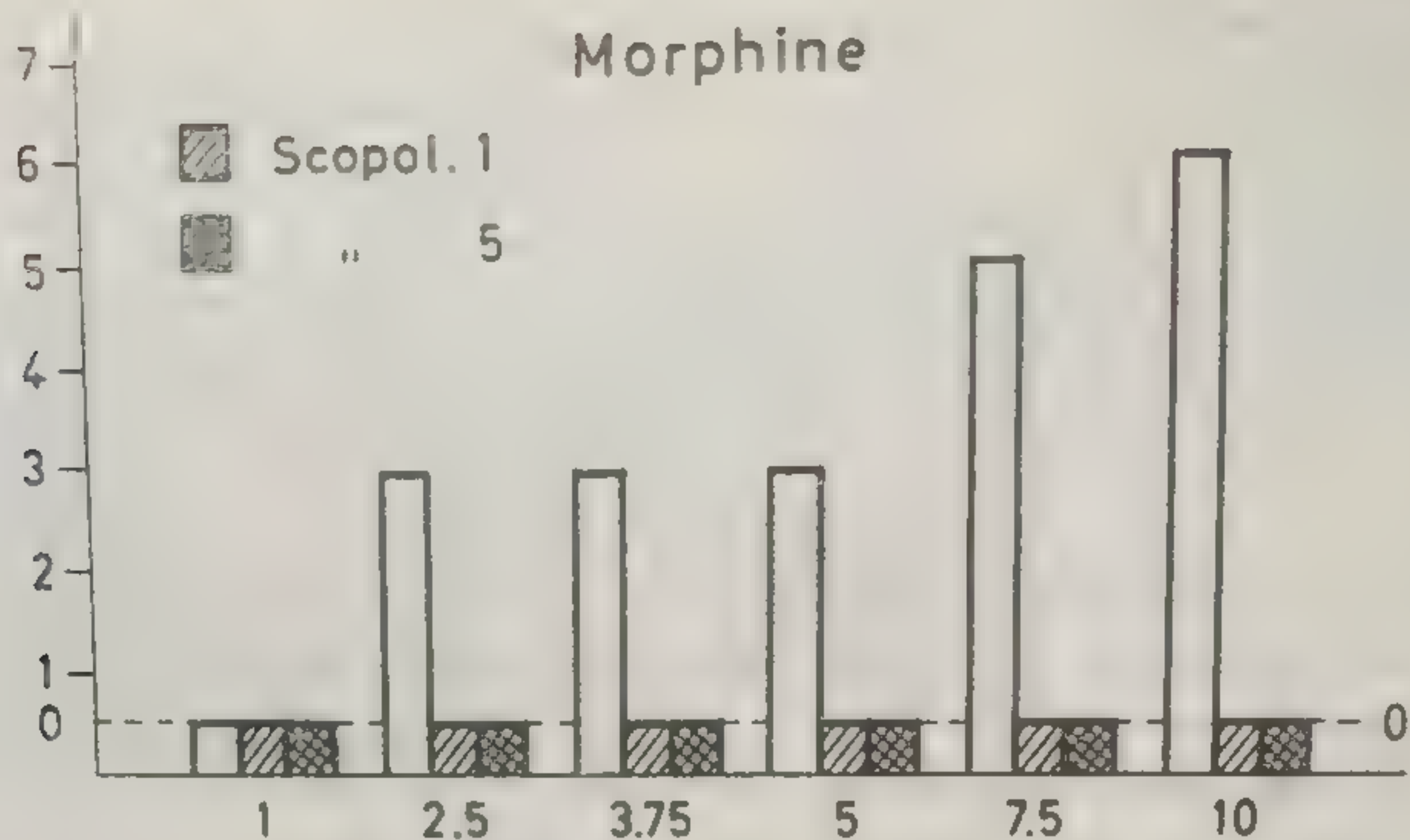


Рис. 18. Симптом Штрауба после интрацеребрального введения морфина и дерморфина: Ось ординат: число реакций $> 90^\circ$ у 10 животных. Ось абсцисс: дозы в мкг. Приводятся средние значения по двум экспериментам ($n = 5$ на каждую дозу). Скополамин (1–5 мг/кг, в/б) антагонизирует вызванное морфином и дерморфином поднятие хвоста.

стически значимое различие проявилось лишь при введении более высоких доз (рис. 18). При введении дерморфина в дозах от 0,01 до 1,0 мкг у 100% животных возникало беспокойство и возрастала двигательная активность ("приступ бега"). От доз свыше 1,0 мкг у мышей развивалась каталепсия, реакция Штрауба и "приступы бега" не проявлялись. Морфин вводили интрацеребрально в дозах 1,0, 2,5, 3,75, 5,0, 7,5 и 10 мкг. При введении 5,0, 7,5 и 10 мкг морфина реакция Штрауба развивалась у 4,5–6 мышей из 10 со средним латентным периодом 20 мин. Морфин вызывал приступы бега во всех дозах. Введение доз свыше 10 мкг вызывало только каталепсию. На рис. 18 представлено влияние скополамина в дозах 1 и 5 мг/кг внут-

рибрюшинно на вызванное морфином и дерморфином поднятие хвоста. Предварительное введение скополамина существенно уменьшало число мышей, у которых реакция Штрауба была положительной. Этот эффект был более выражен, когда животные получали морфин. Предварительное введение налоксона (1 мг/кг, в/б) полностью антагонизировало воздействие всех доз морфина и дерморфина на реакцию Штрауба.

Таким образом, дерморфин у мышей вызывает феномен Штрауба, как морфин и другие наркотические вещества (Lee et al., 1977). При увеличении дозы как дерморфина, так и морфина число мышей с положительной реакцией не возрастает. Возможно, это связано с тем, что при интрацеребральном введении кататоническое влияние пересиливает все остальные эффекты. Предварительное введение скополамина предупреждает или ослабляет развитие феномена Штрауба. Наши данные не согласуются с результатами Lee et al. (1977), показавшими, что поднятие хвоста, вызываемое морфином (100 мг/кг, подкожно), не подвержено влиянию предварительного введения больших доз холинергических блокаторов, таких как атропин (20 мг/кг, в/б), но эта реакция подавляется нейролептиками — блокаторами ДА-рецепторов.

Дерморфин является наиболее эффективным пептидом, обладающим периферической и центральной активностью опиатного типа. Единственными пептидами, степень активности которых сопоставима с дерморфином, являются динорфин (1-13) (Goldstein et al., 1979) и FK-33824. Однако, динорфин быстро расщепляется *in vivo* протеолитическими ферментами, и его центральное действие весьма кратковременно. В отличие от динорфина, дерморфин обладает длительным действием, но в больших дозах может приводить к необратимым нарушениям ЦНС.

ОПИОИДНЫЕ ПЕПТИДЫ И РЕГУЛЯЦИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

О.С.Медведев, М.И.Титов

Вазомоторные области мозга и их связь с системой опиатных пептидов

Методы иммуногистохимического и радиоиммунного определения энкефалинов и эндорфинов позволили выявить весьма высокие концентрации пептидов в зонах мозга, имеющих отношение к центральной регуляции сердечно-сосудистой системы (Hökfelt et al., 1978). Наибольшее содержание иммунореактивных энкефалиноподобных веществ обнаружено в области зоны афферентного входа спинного мозга (I, II пластин) и в VII пластине спинного мозга, где располагаются преганглионарные симпатические нейроны. На уровне продолговатого мозга энкефалины определяются в ядре солитарного тракта в области дна IV желудочка на уровне area postrema, в п. ambiguus (Atweh, Kuhar, 1977; Elde, et al., 1978). Ядро солитарного тракта и двойное ядро являются входным и выходным звеньями барорецептивного рефлекса в пределах продолговатого мозга. В гипоталамусе скопления энкефалин-иммуннопозитивных нейронов показаны в аркуатном, вентромедиальном, паравентрикулярном и других ядрах. Пептиды определяются во многих лимбических структурах, причем наибольшим содержанием их отличается амигдала. В этих же зонах мозга обнаруживают волокна, содержащие β -эндорфин (Bloom et al., 1978). Мет-энкефалина, в среднем, в 4 раза больше, чем лей-энкефалина. В различных зонах мозга соотношение мет-энкефалин/лей-энкефалин колеблется от 1,91 до 66,27. С использованием специфических антисывороток доказано, что лей- и мет-энкефалины находятся в различных нейронах мозга (Larsson et al., 1979). β -Эндорфин тоже локализован в нейронах, отличных от энкефалиновых.

С появлением автордиографического метода визуализации опиатных рецепторов удалось установить тесную связь между локализацией опиатных рецепторов и энкефалинов (Atweh, Kuhar, 1977; Simantov et al., 1977). В отличие от энкефалинов, локализация β -эндорфиновых нейронов не совпадает с зоной выявления опиатных рецепторов (Bloom et al., 1978). Фармакологические и биохимические исследования свидетельствуют о возможном существовании четырех типов опиатных рецепторов: мю, дельта, сигма и каппа (Lord et al., 1977; Chang, Cuatrecasas, 1979; Kosterlitz et al., 1981). Наиболее изученными из них являются мю-рецепторы, имеющие высокое сродство к морфину и дельта-рецепторы, имеющие большее сродство к аналогам энкефалинов, например $DAla^2-DLeu^5$ -энкефалину. В связи с преимущественным нахождением мю-рецепторов в областях мозга, имеющих отношение к интеграции различных форм чувствительности, а дельта- в эмоциогенных зонах мозга, предполагается, что мю-рецепторы определяют антиноцицептивные эффекты, тогда как дельта-рецепторы более избирательно участвуют в регуляции эмоционального поведения (Snyder, 1980).

Высказана гипотеза о преимущественной активации мю-рецепторов мет-энкефалином и дельта-рецепторов — лей-энкефалином, т.е. об участии лей- и мет-энкефалиновых нейронов в регуляции различных функций. Данных о соотношении мю- и дельта-рецепторов в вазомоторных структурах ЦНС почти нет. Есть указания на наличие как мю-, так и дельта-рецепторов в зоне выходных вагальных кардиоингибиторных нейронов — в двойном ядре продолговатого мозга (Goodman et al., 1980).

Наркотические анальгетики как инструмент для фармакологического изучения механизмов регуляции гемодинамики

Внутривенное введение морфина и других наркотических анальгетиков вызывает незначительное, но постоянное снижение артериального давления (АД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). Сердечно-сосудистые эффекты анальгетиков являются отражением их центрального действия. В пользу этого говорят данные об угнетении фоновой симпатической активности в чревном нерве под действием фентанила (Laubie, 1975); показана высокая гипотензивная активность морфина при введении в вертебральную артерию (Hwa, Chan, 1981); эквипотенциальные по гипотензивному эффекту дозы декстроморамида при введении в вену, интрацистернально и в позвоночную артерию соответственно составляют 50, 5 и 2 мг/кг (Laubie, 1975). Избирательная перфузия отдельных участков мозговых желудочков позволила установить, что прессорная реакция и тахикардия при интравентрикулярном введении морфина связаны с активацией рецепторов стенки III желудочка (но не бокового желудочка или акведукта) наиболее вероятно — мю-рецепторов гипоталамуса (Goodman et al., 1980). При введении анальгетиков в IV желудочек (интрацистернально) происходит снижение АД, ЧСС. Наиболее чувствительной к действию морфина областью дна IV желудочка является зона обек. Локальная аппликация морфина на эту область приводит к гипотензии. Гипотензивный эффект подкожно вводимого морфина блокируется при аппликации налоксона на зону обек (Feldberg, Wei, 1978). Сходные данные получены на бодрствующих собаках при перфузии IV желудочка фентанилом, что сопровождается развитием гипотензии и брадикардии, снимаемыми перфузией налоксоном (Freye, Arndt, 1979).

В реализации гипотензивного эффекта наркотических анальгетиков участвуют холинергические системы ствола мозга. Введение физостигмина в позвоночную артерию или М-холиномиметика оксотреморина интрацистернально устраняет гипотензию, вызванную внутривенным введением декстроморамида, последующее введение атропина в позвоночную артерию восстанавливало гипотензию, что подтверждает участие М-холинорецептивной системы в реализации гипотензивного эффекта опиатных средств (Laubie, 1975). Эти данные хорошо согласуются с сообщениями о способности наркотических анальгетиков, энкефалинов и эндорфинов уменьшать выброс ацетилхолина в различных зонах головного мозга. Одним из механизмов угнетения выброса ацетилхолина может быть пресинаптическое торможение, связанное с активацией

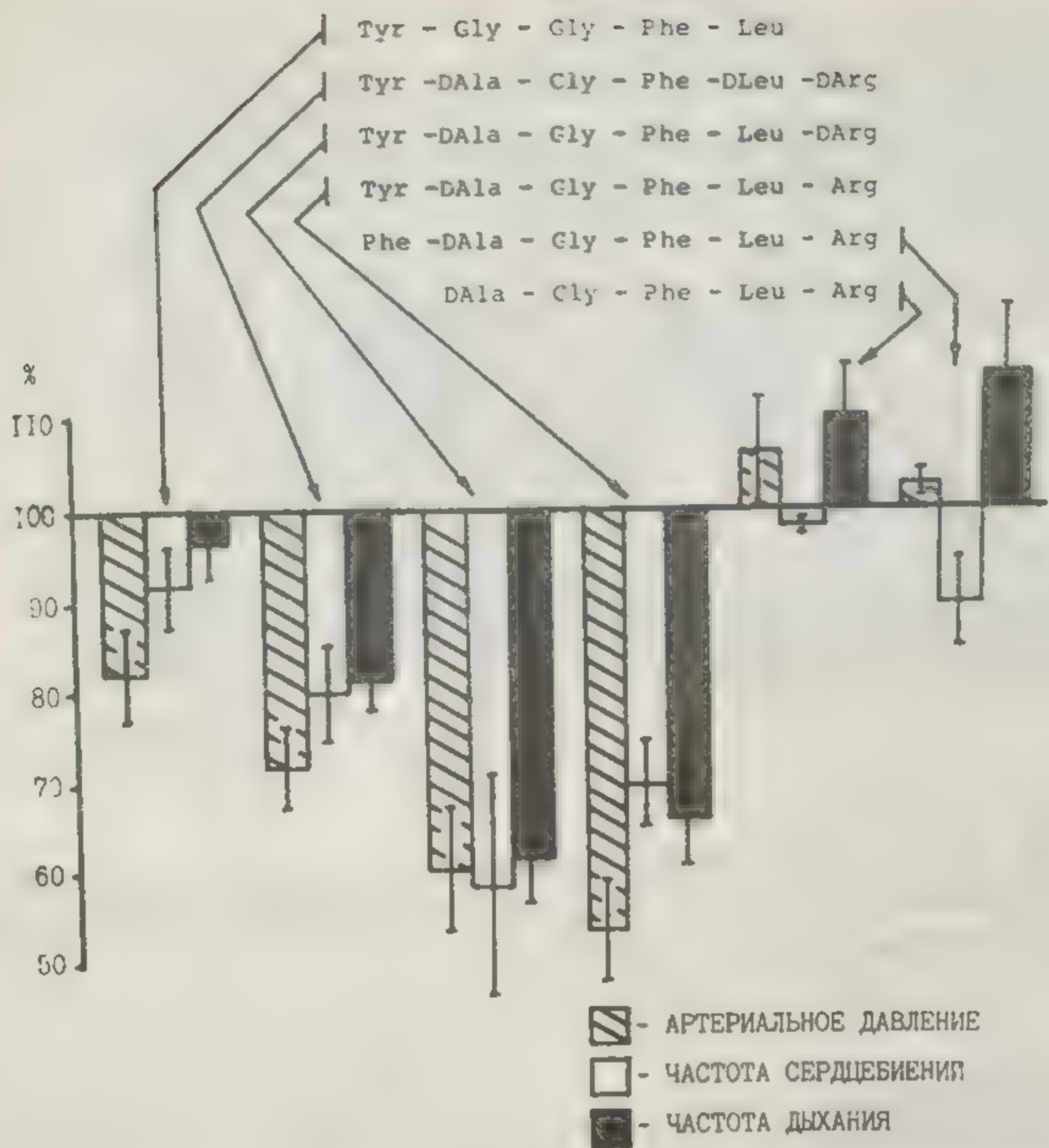


Рис. 19. Влияние ряда синтетических аналогов энкефалинов в дозе 0,5 мг/кг на артериальное давление, частоту сердечных сокращений и частоту дыхания у наркотизированных крыс. Изменения изучаемых параметров представлены в % по отношению к исходному уровню.

жащий тирозина или с замещенным на фенилаланин тирозином, не обладал гипотензивным действием. В соответствии с литературными данными, гипотензивные эффекты блокировались налоксоном, что указывает на их причинную связь с активацией опиатных рецепторов. В отдельной серии опытов было доказано, что эффекты наиболее активного из изученных нами пептидов связаны с угнетением фоновой симпатической активности, регистрируемой у крыс в чревном или почечном нерве (рис. 21).

Сердечно-сосудистые эффекты β -эндорфина детально были исследованы на наркотизированных крысах (Lemaire et al., 1978). Реакция АД в ответ на системное введение β -эндорфина сложна и включает три фазы: раннюю депрессорную (блокируемую налоксоном), вторую — прессорную и третью — длительную гипотензивную (не блокируемую налоксоном). Фармакологический анализ с использованием блокатора синтеза серотонина — параклорфенилаланина (ПХФА), блокаторов серотониновых рецепторов и ингибитора обратного захвата серотонина —

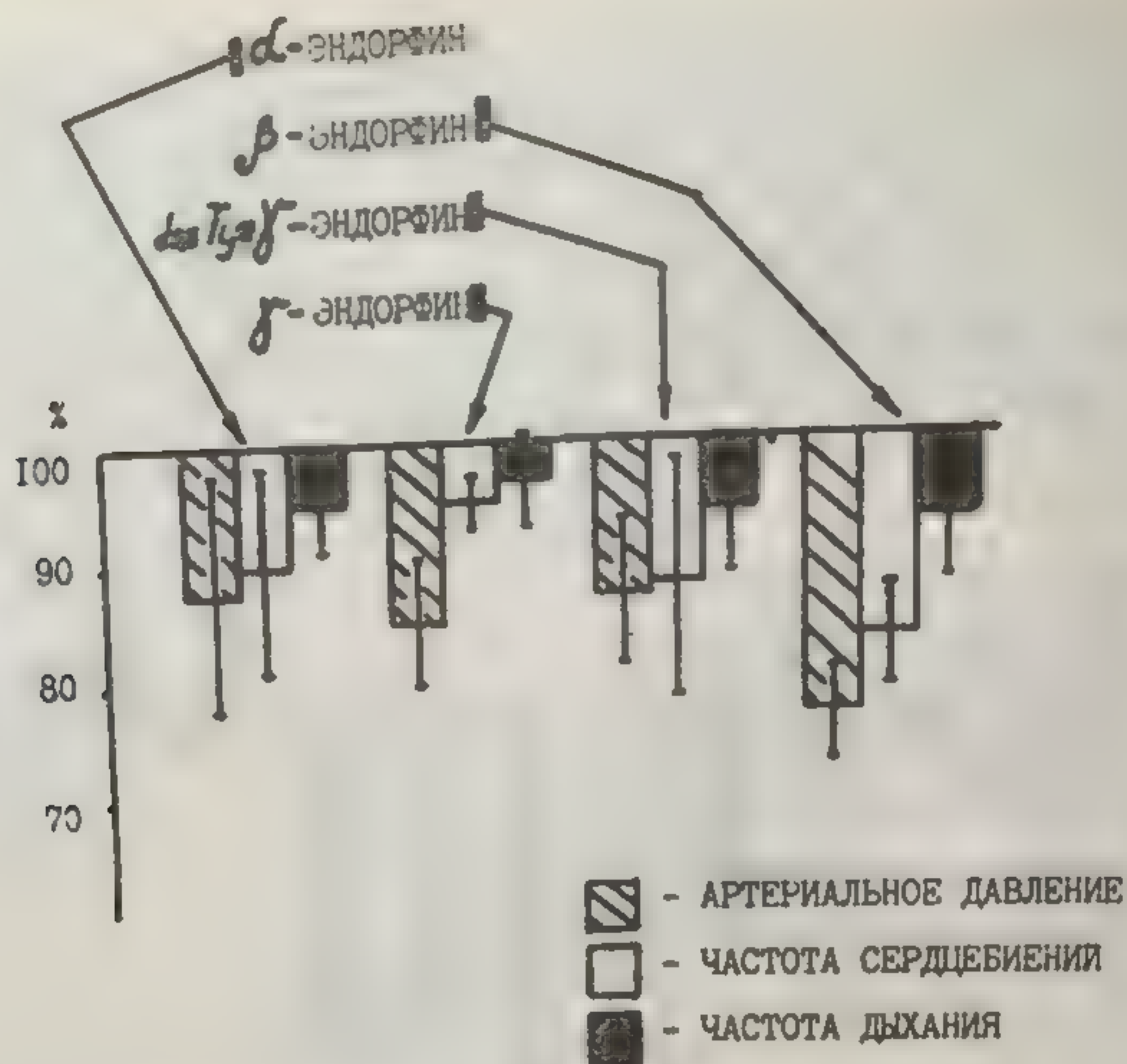


Рис. 20. Влияние ряда эндорфинов (0,5 мг/кг) на артериальное давление, частоту сердечных сокращений и частоту дыхания у наркотизированных крыс

флюоксетина показал, что ранняя гипотензивная фаза реакции на β -эндорфин усиливается при накоплении эндогенного серотонина и блокируется при истощении его запасов или блокаде серотониновых рецепторов. Сделан вывод об участии серотониновой системы в реакции сердечно-сосудистой системы на β -эндорфин. Роль серотониновых рецепторов в реализации анальгетического эффекта морфина и β -эндорфина подтверждена многочисленными исследованиями. Показано также уменьшение сродства опиатного рецептора к энкефалинам при блокаде серотониновых рецепторов (Uzan et al., 1980). Можно предположить, что сходный механизм определяет уменьшение гипотензивной реакции на β -эндорфин на фоне блока серотониновой медиации. Feldberg, Wei (1978) сравнили эффективность некоторых пептидов при введении их в боковой желудочек или интрацистернально наркотизированным кошкам. Мет-энкефалин был неэффективен в дозах до 400 мкг, тогда как β -эндорфин и синтетический пептид $DAla^2$, $DLeu^5$ -энкефалин вызывали понижение АД и ЧСС при интрацистернальном введении и повышение АД и ЧСС при введении в боковой желудочек. Исходя из молярных соотношений исследованные пептиды были в 10-30 раз активнее морфина по гипотензивному действию. Локальная аппликация пептидов в дозе 1-10 мкг на область обих приводила к длительному снижению АД, особенно выраженному после аппликации β -эндорфина. По способности активировать дельта-опиатные рецепторы препараты располагаются в следующем порядке: $DAla^2$, $DLeu^5$ -энкефалин > лей-энкефалин > мет-энкефалин > β -эндорфин > морфин (Goodman et al., 1980). Видно, что большая гипотензивная

АКТИВНОСТЬ
В МЕЧНОМ Н.

мм рт.ст.
250

АД

50

Рис. 21. Изменение активности в зависимости от влияния фенотермина на активность рецепторов симпатической системы и артериальное давление

активность пептидов в зависимости от рецепторов симпатической системы и артериальное давление. Противоречит это предположению о том, что активирование симпатической системы приводит к повышению АД. Однако, поскольку в другой стороне, на вентральную часть гипоталамуса, кратковременное введение аналога $DAla^2$ - пептида вызвало гипотензивный эффект. В опытах на наркотизированных крысах введение в боковой желудочек интрацистернально морфина вызвало гипотензивный эффект. Внутривенное введение морфина в дозе 10 мг/кг приводило к повышению АД. На крысах с удаленным гипоталамусом морфин не вызывал гипотензивного эффекта.

АКТИВНОСТЬ
В ПОЧЕЧНОМ Н.

мм рт.ст.

250

АД

50

Фенилэфрин

Пептид

1 мин

Рис. 21. Изменения артериального давления и симпатической активности (почечный нерв) у наркотизированной крысы под влиянием фенилэфрина (80 мкг/кг, в/в) и D-Ala², Arg⁶ — лей-энкефалина (0,5 мг/кг). Сверху вниз: интегрированная симпатическая активность в почечном нерве, артериальное давление

активность пептидов соответствует большему сродству с дельта-опиатными рецепторами. Неэффективность мет-энкефалина на первый взгляд противоречит этой гипотезе, так как β -эндорфин слабее его по способности активировать дельта-рецепторы, но сильнее по гипотензивному действию. Однако известно, что эндогенные пептиды быстро разрушаются, поэтому их эффект может быть весьма коротким и слабым. С другой стороны, аппликация мет-энкефалина в большой дозе (900 мкг) на вентральную поверхность продолговатого мозга все же вызывает кратковременную гипотензивную реакцию. При использовании стойкого аналога D-Ala²-мет-энкефалинамида и β -эндорфина в дозах 10 мкг возникала гипотензия (Florez et al., 1980).

В опытах на ненаркотизированных животных были получены отличающиеся результаты. Так введение лей-энкефалина спонтанно-гипертензивным крысам (SHR) или нормотензивным крысам линии Вистар-Киото вызывало повышение АД и ЧСС как при внутривенном, так и при интрацистернальном или внутрижелудочковом путях введения. Напроксен блокировал сердечно-сосудистые эффекты лей-энкефалина, вводимого внутривенно в интрацистернально, но не изменял прессорных ответов на введение пептида в боковой желудочек (Schaz et al., 1980). Последние блокировались под действием β -адреноблокатора пропранолола. На крысах линии Блаттлборо введение лей-энкефалина в желудочек мозга приводило к понижению АД. У крыс этой линии полностью

отсутствует способность к синтезу или выделению антидуретического гормона, в результате чего они страдают несахарным диабетом. С учетом способности энкефалинов усиливать выброс антидуретического гормона предполагается, что повышение АД при введении лей-энкефалина нормо- и гипертензивным животным опосредуется выбросом этого гормона. В опытах на ненаркотизированных кошках и собаках также наблюдалось повышение АД и ЧСС после введения D Ala²-лей-энкефалина и D Ala²-мет-энкефалина в боковую желудочек. (Schaz et al., 1980) или лей- и мет-энкефалина в IV желудочек (Медведев и соавт., 1981). Наиболее убедительные доказательства способности наркотических веществ извращать прессорный эффект опиоидных пептидов в депрессорный получены в опытах на собаках (Sander et al., 1982). Интересно, что как прессорный (у бодрствующих животных), так и депрессорный (у наркотизированных) эффект лей-энкефалина блокируется налоксоном. Механизм взаимодействия наркотических веществ и пептидов в вазомоторных зонах ЦНС остается неясным. Сердечно-сосудистые эффекты лей-энкефалина могут определяться его взаимодействием и с другими пептидами, например, ангиотензином, что вытекает из результатов опытов с внутривенным введением лей-энкефалина крысам линии SHR до и после 3 мес перорального приема ингибитора ангиотензин-конвертирующего фермента. На фоне приема этого препарата прессорный эффект лей-энкефалина снижался в 1,5 - 2 раза (Unger et al., 1979). Угнетение прессорного действия лей-энкефалина нельзя объяснить торможением энкефалиназной активности под влиянием ингибитора ангиотензин-конвертирующего фермента.

Антагонисты опиатных рецепторов как инструмент для оценки роли эндогенных пептидов в регуляции гемодинамики

Противоречивость данных, касающихся сердечно-сосудистых эффектов вводимых извне опиоидных пептидов, позволяет поставить вопрос: имеются ли прямые доказательства участия эндогенных пептидов в регуляции функции сердечно-сосудистой системы? Фармакологические доказательства могли бы основываться на изменениях АД и других параметров гемодинамики при блокаде опиатных рецепторов, однако результаты опытов с налоксоном не дают отчетливого ответа на этот вопрос. У наркотизированных кошек налоксон в большом диапазоне доз (0,2-8 мг/кг) не влияет на уровень АД, ЧСС, центрального венозного давления или кровотока в брыжеечной артерии (Curtis et al., 1980). Сходные результаты получены на крысах и кроликах (Petty, Reid, 1980). У здоровых испытуемых не отмечено сердечно-сосудистых реакций на введение налоксона в дозе 0,2 мг/кг (Rubin et al., 1981). У ненаркотизированных крыс налоксон также был неэффективен (Zamir et al., 1980). Налоксон является избирательным блокатором мю-опиатных рецепторов, связываясь с ними в 10 раз легче, чем с дельта-рецепторами. В связи с этим данные о неизменности АД после введения налоксона свидетельствуют лишь против то-

нической активации мю-опиатных рецепторов, участвующих в центральной регуляции гемодинамики. При использовании другого блокатора опиатных рецепторов — дипренорфина, обладающего большим аффинитетом к мю- и дельта-рецепторам, наблюдалось снижение АД на 24 — 32% после его внутрикостерального введения наркотизированным нормотензивным или гипертензивным крысам линии SHR (Bellet et al., 1981). Приведенные данные не позволяют с большой уверенностью говорить об участии эндогенных пептидов, имеющих высокий аффинитет к мю-рецепторам, в регуляции фонового АД. Роль других пептидов остается практически неизвестной, частично в связи с отсутствием избирательных блокаторов других опиатных рецепторов.

Существует целый ряд состояний организма, при которых введение налоксона сопровождается повышением АД. К ним относятся гиповолемический, эндотоксиновый и спинальный шок (Holaday, Faden, 1980). На модели эндотоксинового шока было показано, что способностью повышать АД обладает только стереоизомер (—)-налоксон, но не (+)-налоксон. Это свидетельствует о связи гипертензивного эффекта налоксона с блокадой опиатных рецепторов. Сходный вывод был сделан при изучении стереоизомеров более сильного антагониста — Win 44, 441-3 на модели геморрагического шока (Curtis, Lefer, 1982). Высокая эффективность блокаторов опиатных рецепторов при шоках различного генеза предполагает наличие общего звена в механизме возникновения гипотензии. Наиболее широко в литературе обсуждается гипотеза, согласно которой стресс или шокогенный фактор (эндотоксин, травма, кровопотеря) приводят к образованию "releasing factor" в гипоталамусе, который, в свою очередь, приводит к выбросу эквивалентных количеств АКГГ и β -эндорфина в гипофизе, образующихся из прогормона — проопиокортина. β -Эндорфин при этом выделяется в передней доле гипофиза. Гипертензивный эффект налоксона проявляется как у наркотизированных, так и ненаркотизированных животных, однако данные о гипотензивном эффекте β -эндорфина, лежащие в основе гипотезы, были получены только у наркотизированных животных (Holaday, Faden, 1980; Lemaire et al., 1978).

С учетом возможного извращения эффекта β -эндорфина у ненаркотизированных животных, как это было показано в случае лей-энкефалина (Sander et al., 1982), представлялось необходимым изучить изменения гемодинамики у бодрствующих животных. Наши опыты были выполнены на бодрствующих кошках, которым β -эндорфин вводили внутрикостерально или внутривенно. Результаты этой серии представлены в таблице. Видно, что β -эндорфин в исследованном диапазоне доз не вызывал достоверных изменений АД. Полученные нами данные позволяют усомниться в справедливости гипотезы, связывающей благоприятный эффект налоксона при шоках с блокадой β -эндорфиновой гипотензии.

Влияние β -эндорфина на гемодинамику

	Внутривенное введение					
	Доза, мкг/кг	Исходн. уровень	Время после введения (мин)			
			5	10	15	30
Артериальное давление, мм рт.ст.		115 ± 6,9	109 ± 5,5	110 ± 6,1	110 ± 6,4	108 ± 4,7
Частота сердечных биений, уд/мин	50 n-5	178 ± 15,6	185 ± 21,8	182 ± 20,0	181 ± 19,9	178 ± 16,1
Частота дыхания, вд/мин		46 ± 10,1	52 ± 10,7	60 ± 20,5	65 ± 26,7	52 ± 10,2
Уровень барорефлекса, мс/мм рт.ст.		5,82 ± 1,46	3,62 ± 0,94	4,25 ± 0,73	3,87 ± 0,43	5,17 ± 1,32
Артериальное давление, мм рт.ст.		104 ± 3,4	93 ± 2,5	96 ± 1,8	99 ± 3,5	99 ± 3,1
Частота сердечных биений, уд/мин	100 n-6	155 ± 10,7	154 ± 11,0	150 ± 11,0	146 ± 12,6	155 ± 14,1
Частота дыхания, вд/мин		39 ± 5,2	45 ± 3,8	41 ± 4,4	37 ± 4,6	41 ± 4,7
Уровень барорефлекса, мс/мм рт.ст.		5,93 ± 2,03	6,99 ± 2,58	5,74 ± 2,00	5,82 ± 1,93	6,71 ± 2,40

Опиаты и гомеостатическая регуляция гемодинамики

Для понимания механизмов воздействия опиатов на процессы регуляции гемодинамики важно оценить не только их влияние на фоновый уровень АД, но и на процессы гомеостатической регуляции сердечно-сосудистой системы, одним из компонентов которой является рефлекс с сино-каротидных и аортальных барорецептивных зон. В опытах на бодрствующих собаках при перфузии IV желудочка раствором фентанила наблюдалось подавление сердечного компонента барорецептивного рефлекса в ответ на двухстороннее зажатие сонных артерий при сохранении рефлекторной реакции АД. Последующая перфузия налоксоном снижала действие фентанила (Freye, Arndt, 1979). При изучении опиоидных пептидов нами были получены сходные результаты. Так, в условиях хронического эксперимента на кошках, интрацистернальное введение 100 мкг лей-энкефалина снижало чувствительность барорецептивного рефлекса с 6,7 до 1,7 мс/мм рт.ст., тогда как мет-энкефалин был менее активен и подавлял чувствительность рефлекса с 5,38

и дыхание у ненаркотизированных кошек

Доза, мкг/кг	Исходн. уровень	Внутрижелудочковое введение			
		Время после введения (мин)			
		5	10	15	30
5 n-7	120 ± 7,2	120 ± 6,1	119 ± 8,1	113 ± 7,3	117 ± 6,6
	174 ± 12,2	176 ± 14,2	173 ± 9,9	169 ± 12,1	169 ± 9,4
	45 ± 13,2	41 ± 13,4	36 ± 12,6	45 ± 19,2	50 ± 25,4
	2,9 ± 0,44	-	-	2,48 ± 0,45	2,54 ± 0,42
25 n-7	120 ± 5,5	128 ± 8,6	122 ± 11,1	123 ± 9,6	129 ± 7,5
	174 ± 18,5	153 ± 11,3	148 ± 6,7	154 ± 4,4	153 ± 4,3
	53 ± 21,0	99 ± 39,3	86 ± 37,2	97 ± 52,3	74 ± 27,9
	2,95 ± 0,57	-	-	3,17 ± 1,24	2,40 ± 0,67

до 2,34 мс/мм рт.ст. (Медведев и соавт., 1981). При введении в боковой желудочек стойкого аналога β -DALa²-метэнкефалина также отмечено угнетение сердечного компонента барорецептивного рефлекса у бодрствующих кошек (Schaz et al., 1980). У наркотизированных кроликов стабильный аналог энкефалина строения Tyr-DAla-Gly-Me-Phe-NH(CH₂)₂-NMe₂ относительно избирательный агонист мю-опиатных рецепторов, подавлял барорецептивный рефлекс с 2,9 до 1,4 мс/мм рт.ст. (Petty, Reid, 1981). Налоксон в малой дозе (0,08 мг/кг) не блокировал эффект пептида. Лишь после увеличения дозы до 0,2 мг/кг налоксон снимал тормозное действие аналога на барорецептивный рефлекс, на основании чего предполагается участие не только мю-, но и других типов опиатных рецепторов в регуляции функции гомеостатического механизма. При использовании избирательных агонистов мю-и дельта-рецепторов для анализа барорецептивного рефлекса у бодрствующих кроликов (Petty, Reid, 1981) было показано, что агонист мю-рецепторов угнетал чувствительность барорефлекса, тогда как агонист

Влияние β -эндорфина на гемодинамику

	Внутривенное введение					
	Доза, мкг/кг	Исходн. уровень	Время после введения (мин)			
			5	10	15	30
Артериальное давление, мм рт.ст.		115 ± 6,9	109 ± 5,5	110 ± 6,1	110 ± 6,4	108 ± 4,7
Частота сердечных биений, уд/мин	50 n=5	178 ± 15,6	185 ± 21,8	182 ± 20,0	181 ± 19,9	178 ± 16,1
Частота дыхания, вд/мин		46 ± 10,1	52 ± 10,7	60 ± 20,5	65 ± 26,7	52 ± 10,2
Уровень барорефлекса, мс/мм рт.ст.		5,82 ± 1,46	3,62 ± 0,94	4,25 ± 0,73	3,87 ± 0,43	5,17 ± 1,32
Артериальное давление, мм рт.ст.		104 ± 3,4	93 ± 2,5	96 ± 1,8	99 ± 3,5	99 ± 3,1
Частота сердечных биений, уд/мин	100 n=6	155 ± 10,7	154 ± 11,0	150 ± 11,0	146 ± 12,6	155 ± 14,1
Частота дыхания, вд/мин		39 ± 5,2	45 ± 3,8	41 ± 4,4	37 ± 4,6	41 ± 4,7
Уровень барорефлекса, мс/мм рт.ст.		5,93 ± 2,03	6,99 ± 2,58	5,74 ± 2,00	5,82 ± 1,93	6,71 ± 2,40

Опиаты и гомеостатическая регуляция гемодинамики

Для понимания механизмов воздействия опиатов на процессы регуляции гемодинамики важно оценить не только их влияние на фоновый уровень АД, но и на процессы гомеостатической регуляции сердечно-сосудистой системы, одним из компонентов которой является рефлекс с сино-каротидных и аортальных барорецептивных зон. В опытах на бодрствующих собаках при перфузии IV желудочка раствором фентанила наблюдалось подавление сердечного компонента барорецептивного рефлекса в ответ на двухстороннее зажатие сонных артерий при сохранении рефлекторной реакции АД. Последующая перфузия налоксоном снижала действие фентанила (Freye, Arndt, 1979). При изучении опиоидных пептидов нами были получены сходные результаты. Так, в условиях хронического эксперимента на кошках, интраистернальное введение 100 мкг лей-энкефалина снижало чувствительность барорецептивного рефлекса с 6,7 до 1,7 мс/мм рт.ст., тогда как мет-энкефалин был менее активен и подавлял чувствительность рефлекса с 5,38

Внутрижелудочковое введение

Доза, мкг/кг	Исходн. уровень	Время после введения (мин)			
		5	10	15	30
5 n=7	120 ±7,2	120 ±6,1	119 ±8,1	113 ±7,3	117 ±6,6
	174 ±12,2	176 ±14,2	173 ±9,9	169 ±12,1	169 ±9,4
	45 ±13,2	41 ±13,4	36 ±12,6	45 ±19,2	50 ±25,4
	2,9 ±0,44	-	-	2,48 ±0,45	2,54 ±0,42
25 n=7	120 ±5,5	128 ±8,6	122 ±11,1	123 ±9,6	129 ±7,5
	174 ±18,5	153 ±11,3	148 ±6,7	154 ±4,4	153 ±4,3
	53 ±21,0	99 ±39,3	86 ±37,2	97 ±52,3	74 ±27,9
	2,95 ±0,57	-	-	3,17 ±1,24	2,40 ±0,67

до 2,34 мс/мм рт.ст. (Медведев и соавт., 1981). При введении в боковой желудочек стойкого аналога -DAla^2 метэнкефалина также отмечено угнетение сердечного компонента барорецептивного рефлекса у бодрствующих кошек (Schaz et al., 1980). У наркотизированных кроликов стабильный аналог энкефалина строения $\text{Tyr-DAla-Gly-Me-Phe-NH(CH}_2\text{)-NMe}_2$ относительно избирательный агонист мю-опиатных рецепторов, подавлял барорецептивный рефлекс с 2,9 до 1,4 мс/мм рт.ст. (Petty, Reid, 1981). Налоксон в малой дозе (0,08 мг/кг) не блокировал эффект пептида. Лишь после увеличения дозы до 0,2 мг/кг налоксон снимал тормозное действие аналога на барорецептивный рефлекс, на основании чего предполагается участие не только мю-, но и других типов опиатных рецепторов в регуляции функции гомеостатического механизма. При использовании избирательных агонистов мю- и дельта-рецепторов для анализа барорецептивного рефлекса у бодрствующих кроликов (Petty, Reid, 1981) было показано, что агонист мю-рецепторов угнетал чувствительность барорефлекса, тогда как агонист

дельта-рецепторов (внутрикостеральное введение) достоверно его облегчал, равно как и налоксон в дозе 80 мкг/кг. Таким образом, получены экспериментальные данные о возможности управления гомеостатическими механизмами регуляции гемодинамики посредством активации различных популяций опиатных рецепторов ствола мозга.

В последние годы установлено, что медиатором в окончаниях первичных афферентов баро- и хеморецептивных волокон является вещество пептидной природы – субстанция Р (СП). Иммуногистохимически выявлены СП-положительные первые окончания в ядре солитарного тракта. В чувствительном ганглии (*g. nodosum*), где располагаются нейроны баро- и хеморецептивных афферентов, обнаружены СП-позитивные нейроны. Наиболее убедительные данные в пользу нейромедиаторной роли СП получены в опытах с дегенерацией IX и X черепных нервов (Gillis et al., 1980). Иммуногистохимически выявлены энкефалин-позитивные волокна, образующие аксо-аксональные синапсы с окончаниями барорецептивных волокон, а также аксо-дендритические и аксо-соматические с адренергическими нейронами зоны A_2 , принимающими непосредственное участие в регуляции сердечно-сосудистой системы (Pickel et al., 1979). Можно предполагать, что торможение барорецептивного рефлекса под влиянием наркотических анальгетиков и опиоидных пептидов связано с активацией пресинаптических опиатных рецепторов и последующим уменьшением выделения СП окончаниями барорецептивных афферентов. Сам факт уменьшения выделения СП под влиянием эндорфинов в тройничном ядре мозга крыс доказан экспериментально. Ядро солитарного тракта содержит близкие количества мю- и дельта-рецепторов (Goodman et al., 1980). Большинство из исследованных анальгетиков и пептидов более избирательно активирует мю-опиатные рецепторы. Роль дельта-опиатных рецепторов в регуляции барорецептивного рефлекса остается неясной, так как неизвестен их эндогенный лиганд.

Было обнаружено, что при интракостеральном введении лей-энкефалина бодрствующим кошкам, стимуляция "зоны защиты" гипоталамуса приводила к подъему АД, превышающему на 60% величину прессорной реакции в контроле. Мет-энкефалин в той же дозе не увеличивал прессорной реакции, а в ряде опытов даже их уменьшал (Медведев и соавт., 1981). Различие в эффектах лей- и мет-энкефалина связано, по-видимому, с преимущественной активацией мю- или дельта-опиатных рецепторов ствола мозга. Увеличение эмоциогенных сердечно-сосудистых реакций под влиянием лей-энкефалина согласуется с гипотезой (Snyder, 1980) об участии лей-энкефалина и, соответственно, дельта-опиатных рецепторов в регуляции эмоциональных реакций. Механизм усиления прессорных реакций под влиянием лей-энкефалина остается неизвестным. Лей-энкефалин способствует понижению уровня кортикостерона в крови при стрессе, тогда как мет-энкефалин увеличивает гормональную реакцию на стресс (Gylson et al., 1980). Совместное введение лей- и мет-энкефалинов не отражалось на уровне кортикостерона при стрессе.

Участие опиоидных пептидов в реакции организма на стрессорные воздействия подтверждено многочисленными экспериментами. Так, болевое воздействие и стресс неболевого генеза вызывают повышение

...его
...ных опио
...кие реакции
...конт
...возника
...гипот
...агрессивно-обо
...стояние сердце
...рецептивного
...динамические р
...нов ненаркотизи
...вестно, что раз
...ся торможением
...но практически
...бирательное под
...лекса происходи
...фентанилом (Fr
...рального серого
...непосредственно
...приводит к таки
...ращения, как и
...разом, эндогенн
...ко анальгезии
...ечно-сосудисты
...вызывающих сер
...предположить, ч
...де всего как ре
...чувствительност
...гетического эфф
...желудочковом в
...составляла мене

Артериальное давление

Причинно-следственных пептидов неясными. Налоксид снижает порог у гипертоников (Gylson et al., 1980). Мю-опиоиды блокируют протекцию от гипертонии (зуба) бы... пр... таких ж... ного в... мозга

болевого порога у животных, сопряженное с повышением уровня эндогенных опиоидных пептидов в мозгу и крови. Эмоционально-поведенческие реакции при болевом и других видах стрессорных воздействий включают компоненты агрессивно-оборонительных реакций, которые легко возникают в эксперименте при электрической стимуляции "зон защиты" гипоталамуса. Характерными вегетативными коррелятами агрессивно-оборонительного поведения являются повышение АД, возрастание сердечного выброса, торможение сердечного компонента барорецептивного рефлекса (Вальдман и соавт., 1979). Сходные гемодинамические реакции возникают при центральном введении энкефалинов ненаркотизированным животным (Медведев и соавт., 1981). Известно, что раздражение "зоны защиты" гипоталамуса сопровождается торможением сердечного компонента барорецептивного рефлекса, но практически не влияет на сосудистый компонент. Аналогично, избирательное подавление сердечного компонента барорецептивного рефлекса происходит при перфузии IV желудочка бодрствующих собак фентанилом (Freye, Arndt, 1979). Электрическое раздражение центрального серого вещества — зоны, богатой опиоидными рецепторами и непосредственно участвующей в развитии антиноцицептивного эффекта, приводит к таким же изменениям барорефлекторной регуляции кровообращения, как и раздражение "зоны защиты" гипоталамуса. Таким образом, эндогенные опиоидные пептиды участвуют в развитии не только анальгезии при эмоциональном стрессе, но и в интеграции сердечно-сосудистых эмоциональных реакций. Сравнение доз энкефалинов, вызывающих сердечно-сосудистые реакции и анальгезию, позволяет предположить, что эндогенные пептиды могут рассматриваться прежде всего как регуляторы сердечно-сосудистой системы, а не болевой чувствительности. Так, пороговая доза $DAla^2$ -энкефалина для анальгетического эффекта составляет у крыс 50–100 нмоль при внутрижелудочковом введении, тогда как пороговая доза для изменения АД составляла менее 3,6 нмоль (Schaz et al., 1980).

Артериальная гипертензия и опиоидные пептиды

Причинно-следственные взаимоотношения между системой эндогенных пептидов и развитием артериальной гипертензии остаются неясными. Налоксон (10 мг/кг) приводил к нормализации болевого порога у гипертензивных крыс, но не изменял уровень АД (Zamir et al., 1980). С учетом способности налоксона преимущественно блокировать мю-опиатные рецепторы, эти результаты лишь свидетельствуют против их участия в развитии гипертензии, но не отрицают возможности участия других типов опиатных рецепторов. У молодых гипертоников болевой порог (электрическая активация пульпы зуба) был почти вдвое выше, чем у здоровых лиц того же возраста. Гипертензивные крысы (ДОКА-солевая, почечная гипертензия) проявляют меньшую чувствительность к болевым стимулам. У таких животных отмечено возрастание уровня мет-энкефалиноподобного вещества в гипоталамусе, гипофизе, шейном отделе спинного мозга (Zamir et al., 1980). У спонтанно-гипертензивных крыс в 3

раза усилено прессорное действие лей-энкефалина, вводимого в боковую желудочек мозга (Schaz et al., 1980), уменьшено содержание энкефалинов в симпатических ганглиях и повышено общее количество опиатных рецепторов в мозгу (Martucci et al., 1979).

Одним из механизмов участия опиоидных пептидов в развитии артериальной гипертензии может быть вызываемое ими торможение барорецептивного рефлекса (Медведев и соавт., 1981). Установлено достоверное снижение торможения барорецептивного рефлекса (до 0,537 мс/мм рт.ст., в контроле – 0,950) уже на третий день после сужения почечной артерии у крыс. Через 2 нед. чувствительность рефлекса снижается до 0,182 мс/мм рт.ст. (Jones, Floras, 1980). Факт торможения барорецептивного рефлекса при гипертензии хорошо согласуется с повышением болевого порога, так как в их основе может лежать общий механизм – пресинаптическое торможение афферентного входа на уровне первичных афферентов. С другой стороны, само повышение АД вызывает выброс β -эндорфина у крыс (Anhut et al., 1981), а активация барорецепторов сопровождается анальгезией.

Опиатное звено в механизме действия антигипертензивных средств

Высказано предположение о возможном участии опиатных рецепторов в реализации гипотензивного эффекта ряда препаратов центрального действия. Обнаруживается большое сходство в эффектах клонидина и агонистов опиатных рецепторов. Клонидин, как и наркотические анальгетики, понижает АД и ЧСС, действуя на одни и те же зоны продолговатого мозга. Сердечно-сосудистые эффекты анальгетиков и клонидина блокируются центральными М-холиномиметиками, что в свою очередь предупреждается атропином (Laubie, 1975). Анальгезия, вызванная клонидином, имеет кросс-толерантность к анальгетическому действию морфина (Paalzow, 1978). Прекращение приема клонидина вызывает симптомы, сходные с синдромом опиатной абстиненции (Reid et al., 1977), а назначение клонидина снимает симптомы абстиненции у наркоманов. Блокаторы центральных α -адренорецепторов – йохимбин и пипероксан – антагонисты центрального гипотензивного эффекта клонидина, вызывают проявления, сходные с эффектами отмены опиатов. Блокаторы опиатных рецепторов налорфин и налоксон способны уменьшать или полностью снимать гипотензивный и брадикардитический эффекты клонидина (Karrupen, 1979). Налоксон значительно сильнее блокирует сердечно-сосудистые эффекты клонидина у спонтанно-гипертензивных крыс по сравнению с нормотензивными крысами линии Вистар-Киото (Farsang et al., 1980). Налоксон блокирует также гипотензивное действие другого активатора центральных α -адренорецепторов – α -метилдофа. Однако, имеются указания и на отсутствие клонидин-налоксонового антагонизма у наркотизированных собак и крыс (Karrupen, 1979; Laubie, 1975). Причина получения разноречивых результатов пока остается невыясненной.

Морфин и клонидин угнетают активность нейронов синего ядра, но

взаимодействуют с различными рецепторами. Клонидин не влиял на стереоселективное связывание 3H -налоксона с опиатными рецепторами, а налоксон не угнетал, в отличие от клонидина, связывание 3H -дигидроэргокрипина с α -адренорецепторами (Farsang et al., 1980). При использовании морфина и $DMet^2, Pro^5$ -энкефалинамида также были получены данные против прямого взаимодействия клонидина с опиатными рецепторами (Galembiowska, Nikitin et al., 1980). Снятие гипотензивного эффекта клонидина налоксоном, наряду с отсутствием их взаимодействия на одном и том же рецепторе, предполагает наличие посредника, активирующего опиатные рецепторы. Было обнаружено усиление выброса β -эндорфина срезами продолговатого мозга крыс линии SHR под влиянием агонистов центральных α -адренорецепторов — клонидина и α -метилнорадреналина (Kupos et al., 1981). С учетом выраженной гипотензивной активности β -эндорфина при интрацистернальном введении (Volme et al., 1978), β -эндорфин действительно следует считать наиболее вероятным кандидатом на роль посредника между адренергическими нейронами ствола мозга и опиатными рецепторами, активация которых ведет к торможению симпатической активности.

Приведенный анализ литературных и собственных данных имеет целью привлечь внимание исследователей к вопросу участия эндогенных опиоидных пептидов в центральной регуляции сердечно-сосудистой системы, в развитии артериальной гипертензии, в интеграции адаптивных прессорных реакций. Широкое и дифференцированное распределение пептидов в различных участках мозга, наличие нескольких типов опиатных рецепторов, способность одного и того же пептида активировать различные группы рецепторов — является основой для их участия в интеграции эмоциогенных и других адаптивных гемодинамических реакций.

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ НЕЙРОПЕПТИДОВ И НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ В МЕХАНИЗМАХ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

И. П. Ашмарин

Естественным является стремление исследователей выявить некий единственный механизм кратковременной нейробиологической памяти (КП). Этому препятствует, однако, не только сложность проблемы, но и ряд фактов, позволяющих предполагать существование многих параллельно действующих систем формирования и поддержания КП. К таким фактам относятся прежде всего, неудачи попыток определения временных границ КП. Границы между КП и стадией консолидации долговременной памяти (ДП) или между КП и ДП не только представляются размытыми, но просто не поддаются определению, если пытаться предъявить более жесткие требования, чем интервал от долей секунды до часов (Ашмарин, 1975; Кругликов, 1981). Не случайны, очевидно, попытки многих нейрофизиологов вводить помимо понятий КП и ДП представления об "оперативной", "лабильной" и других промежуточных по продолжительности формах памяти. Можно лишь считать, что продолжительность ДП может охватывать, в отличие от КП, всю жизнь животного и человека. Очевидно, что определение КП как "непожизненной памяти" было бы слишком расплывчатым. Более плодотворным является путь выявления различий между биохимическими системами, вовлекаемыми в КП и ДП. Достаточно обоснованным представляется положение о том, что существует форма памяти, которая не находится в прямой зависимости от синтеза белков и РНК и нарушается при воздействиях, заведомо не влияющих на ДП (электрошок, коммоция, некоторые м-холинолитики, пролин и др.) (Ашмарин, 1975; Бородин, Зайцев, 1981, Кругликов, 1981; Gibbs et al., 1977). Продолжительность такой формы памяти очень невелика — 0,002–0,5 с, а далее следует, как полагают, многочасовая стадия формирования ДП — консолидация, прямо связанная с синтезом ряда белков и РНК. Возникает, однако, вопрос: почему нужно заведомо отказаться от предположения, что существуют формы памяти, отличные от КП и по продолжительности и/по биохимическим механизмам? Почему нельзя допустить, что такие формы КП связаны с синтезом белков и РНК (может быть, идентичными тем, которые необходимы для консолидации, а может быть и специальными)? Ингибиторный анализ, некоторые обобщения которого представлены в таблице, не дает никаких строгих аргументов против такого предположения. Данные о нарастании после обучения концентраций ряда нейроспецифических белков типа S-100, 14-3-2, некоторых гликопротеинов и др., достигающих максимума в разных отделах мозга на 6–24-й час и далее снижающихся (Hyden, 1978), могут быть отнесены не только к консолидации, но и к более продолжительным формам КП. Подавление ингибиторами консолидации синтеза перечисленных белков не является доказательством участия последних исключительно в консолидации, ибо применяемые ингибиторы могут одновременно тормозить синтез других белков (или РНК).

Кратковременная
Электрическая
"чистая" кратковременная память,
т.д.

Электрошок
Коммоция

М-холинолитики
пин, скополамин
тализил и др.)

KCl, LiCl (введен
непосредственно
которые отделы
L-пролин,
L-баикаин
(L-глутамат)

Более того, даж
ми, избирательн
ки (например, а
гументом проти
пустимо одновре
поддержании др

Гипотеза о

Термин крат
ловным, если
превышающей ч
в категорию до
ДП в "чистом
ректным предст
ченная во врем
(ОП). Рассмот
ком случае, н
атного полож
формы нейро

Ингибиторы памяти

Кратковременная память		Консолидация долговременной памяти	
Электрическая память, "чистая" кратковременная память, КП и т.д.	"Лабильная" память	Неспецифические или малоспецифичные ингибиторы	Относительно специфичные ингибиторы
Электрошок Коммоция	Ингибиторы К, Na-АТФазы (оуабайн, этакриновая к-та)	Анизомидин, циклогексимид, пуромицин,	Антивазопрессинные антитела, Антитела к белку S-100
М-холинолитики (атропин, скополамин, метамизил и др.)	α -аминоизобутират	камптотецин, актиномицин Д,	Фрагменты АКТГ 4-7, 4-10 и др. с D-Phe ⁷
KCl, LiCl (введения непосредственно в некоторые отделы мозга)	CO ₂ , гипоксия, гипотермия	8-азагуанин, РНК-аза 5-окситриптофан	Дезтирозил-уэндорфин Окситоцин
L-пролин, L-баикаин (L-глутамат)			

Более того, даже эксперименты по подавлению консолидации агентами, избирательно связывающими отдельные нейроспецифические белки (например, антисыворотками к S-100), тоже не могут быть аргументом против существования других форм КП, так как вполне допустимо одновременное участие этих белков и в консолидации, и в поддержании других форм КП.

Гипотеза о множественности систем кратковременной памяти

Термин кратковременная память становится все более и более условным, если включать в него формы памяти с продолжительностью, превышающей часы, сутки и т.п. В то же время, включать последние в категорию долговременной памяти нет оснований, если учесть, что КП в "чистом" виде может быть пожизненной. Поэтому более корректным представляется сложное обозначение: "относительно ограниченная во времени память" или, упрощая, "ограниченная память" (ОП). Рассмотрим возможность существования многих (или, во всяком случае, не единичных) форм ОП. Если исходить из весьма вероятного положения, что обязательным, важнейшим элементом любой формы нейробиологической памяти является более или менее продолжи-

тельная модификация проводимости ряда синапсов, то, опираясь на большое число известных процессов, начинающихся в синапсе при прохождении импульса (импульсов), можно представить себе целую гамму механизмов, изменяющих проводимость синапса на различные интервалы времени. Вот краткий, несомненно неполный, перечень таких процессов с характеристикой примерной их продолжительности с момента поступления импульса.

1. Выброс медиатора обычного типа (непептидного), его рецепция постсинаптической мембраной, расщепление или реабсорбция, — обычно менее 0,1 с.

2. Вызванное медиатором изменение ионных потоков и ионного окружения постсинаптической мембраны, изменение ее потенциала — собственно прохождение импульса, восстановление потенциала мембраны до уровня готовности к новому импульсу, — обычно менее 0,1 с.

3. Изменение концентраций ионов калия, аммония, хлора, кальция в синаптической щели и поблизости от нее; при однократном импульсе сохраняется менее 0,1 с, при повторной многократной импульсации может, по-видимому, сохраняться в течение секунд. Эти процессы рассматриваются в некоторых теориях памяти как фактор, включающий механизмы консолидации.

4. Выброс из пресинаптической терминали различных факторов, сопутствующих медиатору обычного типа: АТФ (находящегося, например, в катехоламинных везикулах), ряда нейропептидов, которые могут либо находиться в одной везикуле с обычным медиатором (например, норадреналин с энкефалином в окончаниях некоторых симпатических нервов, Wilson et al., 1980), либо быть в других везикулах той же терминали.

Последняя ситуация является весьма распространенной. Уже первые несколько лет исследований в этом направлении выявили очень большое число сочетаний обычных и пептидных нейромедиаторов в различных по локализации и по характеру нервных окончаниях. Так, показано сосуществование в одном нервном окончании: норадреналина с энкефалинами и близкими к ним пептидами, с соматостатиноподобными пептидами; дофамина с холецистокинином (ССК-8), с энкефалином; ацетилхолина с вазоинтестинальным пептидом; серотонина с веществом Р, с тиреолиберином и т.п. (Hökfelt et al., 1980). Все больше появляется также примеров сосуществования в одной терминали разных нейропептидов (ангиотензина с вазопрессином, АКТГ с β -липотропином и/или с β -эндорфином, АКТГ с люлиберином, тиреолиберина с веществом Р и т.п., Hökfelt et al., 1980; Kilcoyne et al., 1980; Beauvillain et al., 1981). Не исключено, что такого рода сочетания являются скорее правилом, нежели особой ситуацией. Предполагаемое физиологическое значение таких сочетаний может быть проиллюстрировано на примере комбинации ацетилхолина и вазоинтестинального пептида (VIP) в терминалиях слюнных желез (Hökfelt et al., 1980). Первый — непосредственно стимулирует секрецию, второй — вызывает расширение сосудов в железе, форсирует кровоток и, тем самым, косвенно способствует ее действию. В данном случае действие обычного медиатора и более стабильного пептида-спутника на-

правлено на разные объекты. Более сложные предположения допускают участие пептида в обратной регуляции выброса основного медиатора, либо в каком-то дополнительном воздействии на постсинаптическую мембрану, изменяющем на некоторое время ее чувствительность. Последнее может иметь отношение к ОП, так как срок полураспада многих из упомянутых выше нейропептидов, по-видимому, выше, чем у обычных нейромедиаторов, достигая минуты или более. Иначе говоря, они могут изменять состояние синапса на более длительное время, чем обычные нейромедиаторы. Имеется в виду широкий круг пептидов, сопутствующих обычным медиаторам, а не только пептиды, известные как общие стимуляторы запоминания (АКТГ, МСГ и вазопрессины). Последние рассматриваются некоторыми исследователями (Кругликов, 1981; Бородкин, Зайцев, 1981) как факторы, продлевающие, фиксирующие на некоторое время состояние синапса, измененное повторной импульсацией.

Сложность системы запоминания, наличие огромного числа прямых и косвенных связей между механизмами действия различных факторов заставляют более детально оценить доказательства участия пептидов в формировании памяти. Стимуляция памяти при введении тех или иных пептидов извне не может быть решающим доказательством, ибо самое "корректное" дополнение извне всегда является в какой-то мере искусственным. Наиболее доказательным представляется строго избирательное исключение образования или действия собственно фактора путем связывания его соответствующими антителами. Такие эксперименты были произведены в отношении вазопрессина (De Wied, 1980). Вазопрессин конъюгировали с нейтральным высокомолекулярным носителем и получали антисыворотки. Внутривенное введение таких антисывороток в начале консолидации вызывало амнезию. Нами (Антонова и соавт., 1981) были получены конъюгаты АКТГ₄₋₁₀ с бычьим серумальбумином и показана практически полная неспособность к обучению крыс, иммунизированных этими конъюгатами (рис. 22). Таким образом, прямое участие по крайней мере двух групп нейропептидов в механизмах памяти не вызывает сейчас сомнений.

Однако, располагая достаточно обоснованной информацией всего лишь о двух пептидах памяти, мы сразу сталкиваемся с качественными различиями их действия на запоминание, что, вероятно, может служить одним из проявлений развиваемых нами представлений о множественности механизмов памяти. Так, в 1976-78 гг. нейрофизиологи склонялись к представлению о том, что на консолидацию памяти действует вазопрессин, а АКТГ₄₋₇₍₄₋₁₀₎ лишь стимулирует внимание. Однако нами (Каменский и соавт., 1980) было показано, что АКТГ₄₋₇₍₄₋₁₀₎ ускоряет усвоение навыка даже при введении после завершения сеансов обучения (рис. 23). Это может быть истолковано только как следствие влияния АКТГ₄₋₇₍₄₋₁₀₎ на формирование памяти, а не на уровень внимания. В то же время, в отличие от вазопрессина, АКТГ₄₋₇₍₄₋₁₀₎ в гораздо меньшей мере влияет на дли-

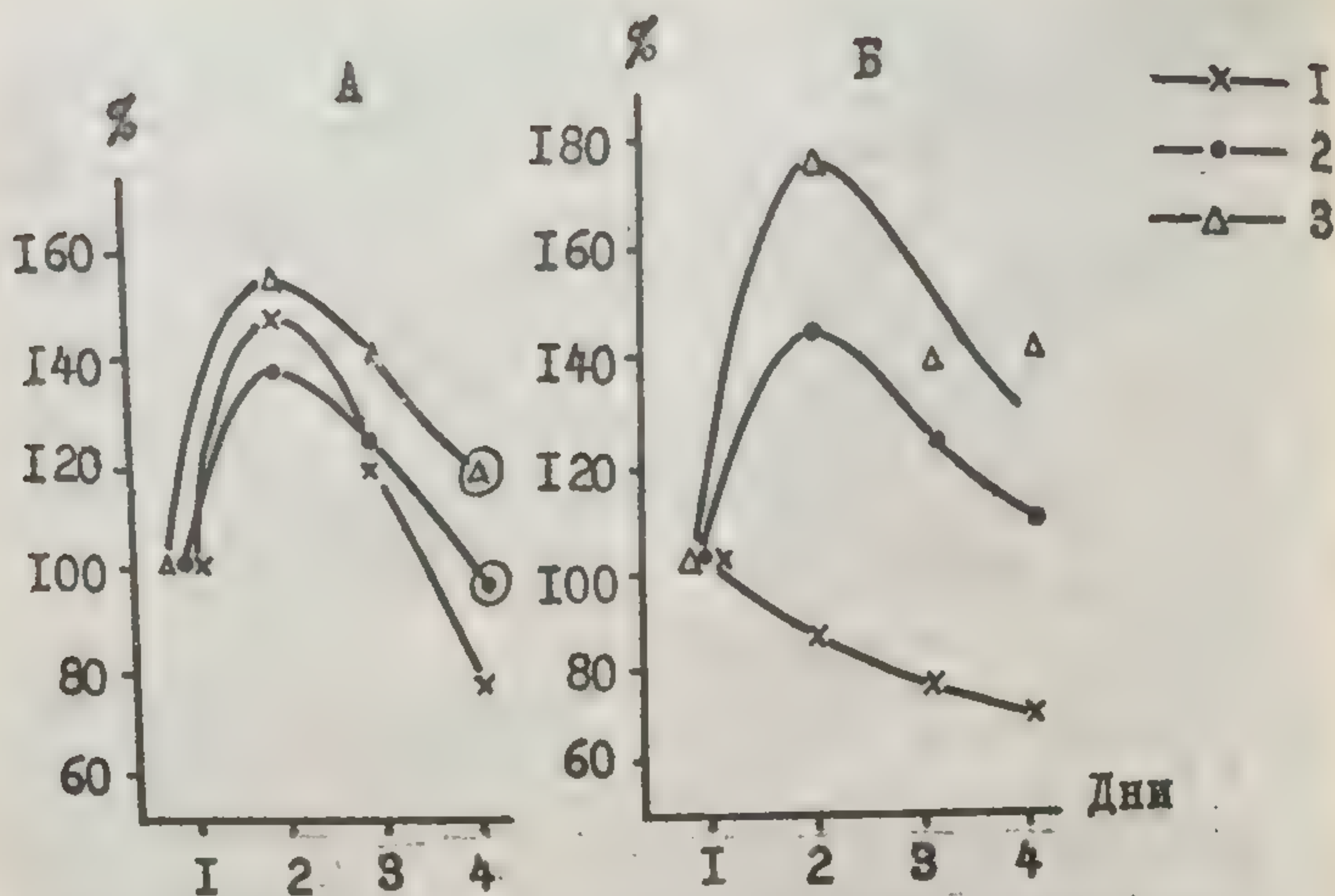


Рис.22. Изменение числа невыполненных реакций (А) и латентного периода реакции (Б) при обучении крыс в Т-образном лабиринте у контрольных животных (1), животных, иммунизированных конъюгатом БСА (2) и животных, иммунизированных конъюгатом БСА-АКТГ₄₋₁₀ (3): Ось абсцисс – дни обучения,

ось ординат – значения показателей в процентах к первому дню обучения. Достоверно отличающиеся от контроля значения ($p < 0,05$) обведены кружком

тельность сохранения энграммы, хотя и повышает скорость и эффективность обучения. При существовании единственного механизма запоминания весьма затруднительно истолковать эти различия. Гипотеза о множественных механизмах согласуется с ними.

5. Следующая по продолжительности группа запускаемых при прохождении импульса биохимических процессов – индукция синтеза циклических нуклеотидов, активация ими протеинкиназ и фосфорилирование ряда белков. При этом надо различать эффекты, которые возникают, с одной стороны, (а) при фосфорилировании самих белков мембраны или белков, прямо влияющих на ее состояние, а с другой стороны – (б) при фосфорилировании гистонов и других регуляторных белков хроматина. а) Изменение состояния мембраны под влиянием процессов первого типа, ее рецепторных образований, ионных каналов, систем связывания и транспорта некоторых ионов (в том числе ионов кальция) разворачивается, по-видимому, в пределах 10-20 мин после импульсации. б) Вторая группа процессов ведет к включению (или выключению) синтеза отдельных мРНК и соответствующих белков и находит свое выражение позже – в пределах часа с достижением максимума на 3-6-й часы. После этого суммарный уровень соответствующих

Рис.23. Изменение...
торым вводили...
сов обучения: С...
процентах по о...
– дни обучения...
кружками

х белков в тече...
ршается практи...
на небольшую...
подержания в ней...
tyden, 1978). Б...
концентраций...
продолжительности...
вторичны...
тельно длительно...
роированных бел...
6. Наиболее д...
вязаны с ОП... о...
вновь синтез...
в синапс...
писанных в п.

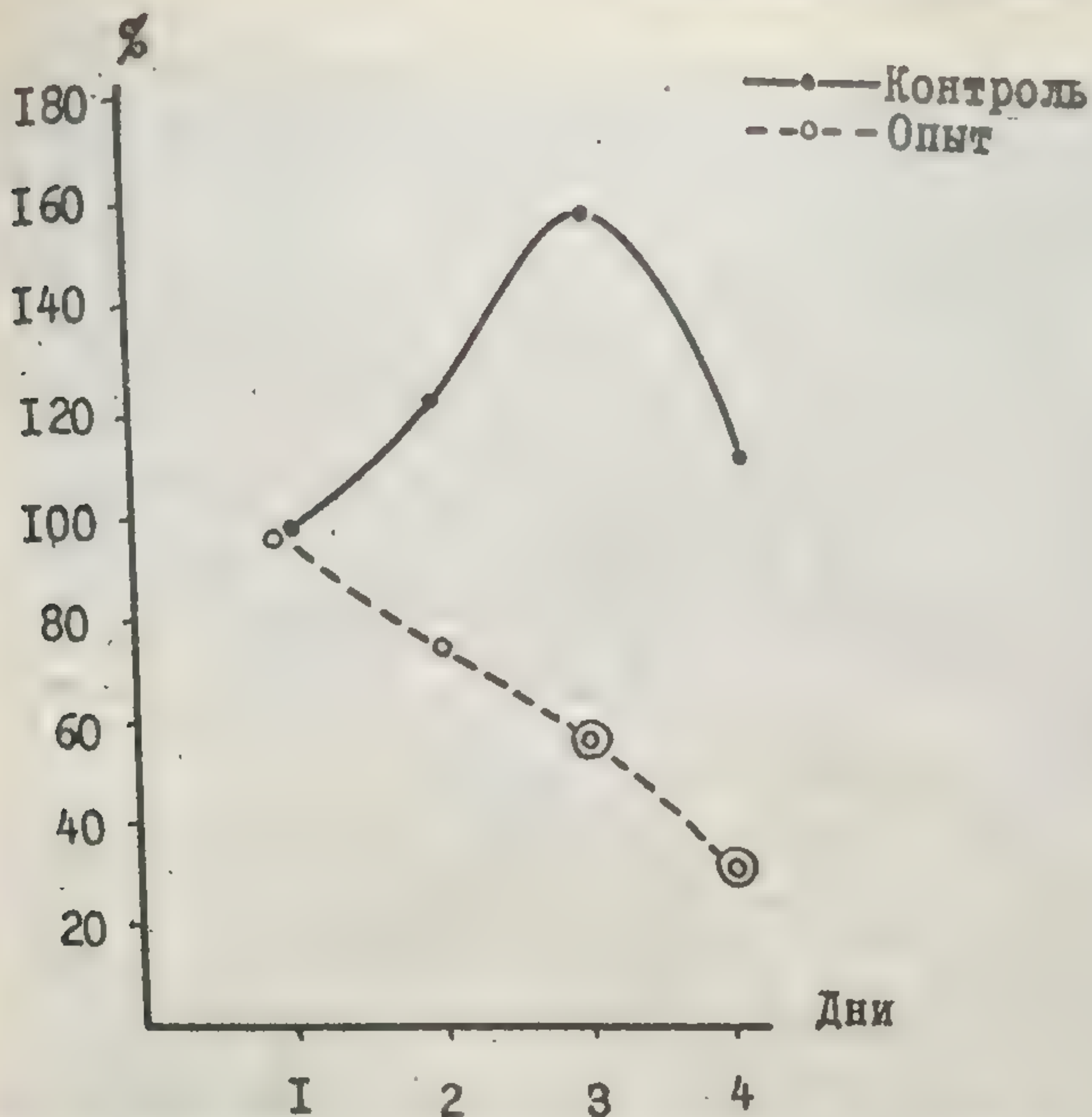


Рис.23. Изменение числа невыполненных реакций у крыс, которым вводили АКГГ₄₋₇ в дозе 50 мкг/кг сразу после сеансов обучения: Ось ординат — число невыполненных реакций в процентах по отношению к первому дню обучения. Ось абсцисс — дни обучения. Достоверные отличия ($p < 0,05$) отмечены кружками

щих белков в течение многочасового периода (нескольких суток) возвращается практически к уровню, исходному или превышающему исходный на небольшую величину. Такова примерная динамика изменений содержания в нейронах гиппокампа белков S-100 и 14-3-2 (Hyden, 1978). Еще более растянуты во времени процессы изменения концентраций некоторых мозговых белков в коре, хотя, оценивая продолжительность этих последних процессов, следует учитывать возможный вторичный их характер или наложение, например, таких относительно длительных процессов как аксональный транспорт вновь синтезированных белков из нейронов гиппокампа.

6. Наиболее длительная группа процессов, которые могут быть связаны с ОП₄ относится к упомянутым выше небольшим количествам вновь синтезированных нейроспецифических белков, "задерживающимся" в синаптических мембранах после завершения процессов, описанных в п. 5б. Иногда именно с этим одноактным включением

нового белка в мембраны синапса связывают закрепление ДП. Здесь необходимо подчеркнуть принципиальную, по нашему мнению, недостаточность представлений, которые сводят модификацию синапса, достаточную для закрепления ДП, к одноактному включению того или иного нового компонента в мембрану — например S-100 или 14-3-2 (Hyden, 1978). Наиболее стабильные из известных белков организма имеют период полураспада, несопоставимый с продолжительностью жизни ряда животных. Следовательно, без одновременного запуска какой-то устойчивой системы их обновления, простое включение нового компонента в мембрану (или модификация ранее содержавшегося компонента) не может удовлетворить требованиям ДП. Напротив, такое же простое включение, не сопряженное с запуском системы обновления, может быть основой наиболее продолжительной формы ОП, измеряемой месяцами — срок распада наиболее стабильных белков. Такие формы ОП могут легко быть смешаны в эксперименте с ДП, хотя они заведомо не могут подменять ДП, если продолжительность жизни животного существенно превышает месяцы.

"На грани" механизмов, определяющих либо наиболее длительные формы ОП, либо ДП, стоят также гипотетические представления о возможной роли в запоминании аутоиммунных процессов. Эти представления, подробно изложены ранее (Ашмарин, 1975). В последнее время появились лишь две группы новых фактов, из которых одна может рассматриваться как косвенный аргумент за возможность существования иммунохимических механизмов памяти, а вторая — указывает на сложность связей между памятью и иммунохимическими процессами, и в то же время служит еще одним свидетельством в пользу множественности механизмов памяти. Так, важнейшим условием иммунохимической гипотезы является разнообразная "маркировка" небольших групп нейронов специфическими белками, пептидами. Весь ход накопления данных о разнообразии пептидов, вырабатываемых различными группами нейронов, позволяет полагать, что по этому "маркеру" можно различать, по крайней мере многие десятки таких групп. Такая дифференциация по пептидным детерминантам уже достаточна для формирования антигенной мозаичности, предусматриваемой гипотезой. С другой стороны, развитие работ по воздействию на память стимуляторами иммунитета привело к своеобразному результату. Нами (Ашмарин и соавт., 1976) выявлено, что стимулятор иммуногенеза — адьювант Фрейнда — достоверно облегчает усвоение и удержание рефлекса с отрицательным подкреплением, но оказывает обратное действие при выработке рефлексов с положительным подкреплением (рис. 24 и 25). Одно из возможных толкований этих данных опять-таки может состоять в допущении существования множественных механизмов запоминания, различающихся в данном случае по типу усваиваемого рефлекса.

Суммируя представленный выше обзор возможных процессов, могущих быть основой разных форм ОП, отметим, прежде всего, три механизма и, соответственно, три формы ОП, которые описаны в пп. 1-4 и не сопряжены с синтезом белка (и м-РНК). Первая — ОП-

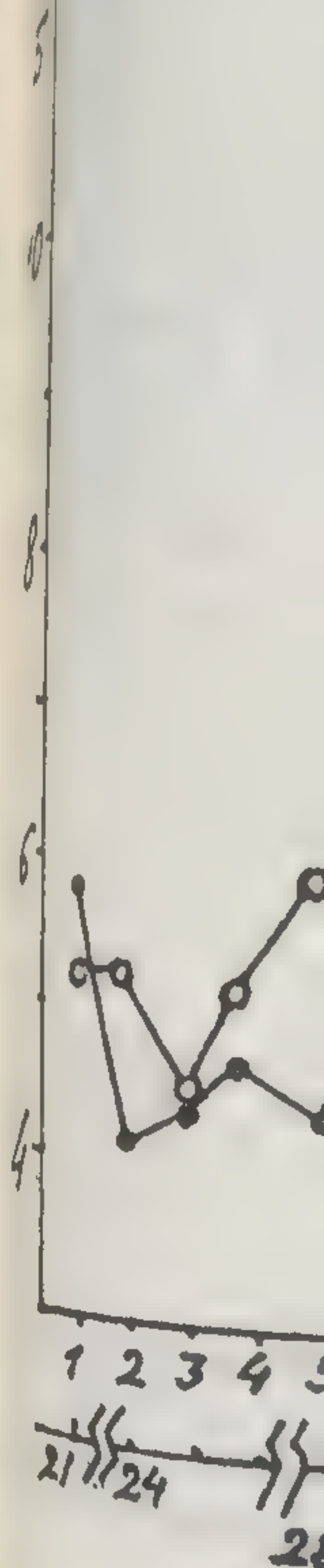


Рис. 24. Обобщенная линия — положительный контроль (5)

совпадает, по-
ностью менее 1 с
гипотез 1-2; втор
страняться по кр
ность известные
форма ОП-III
то касается
специфическ

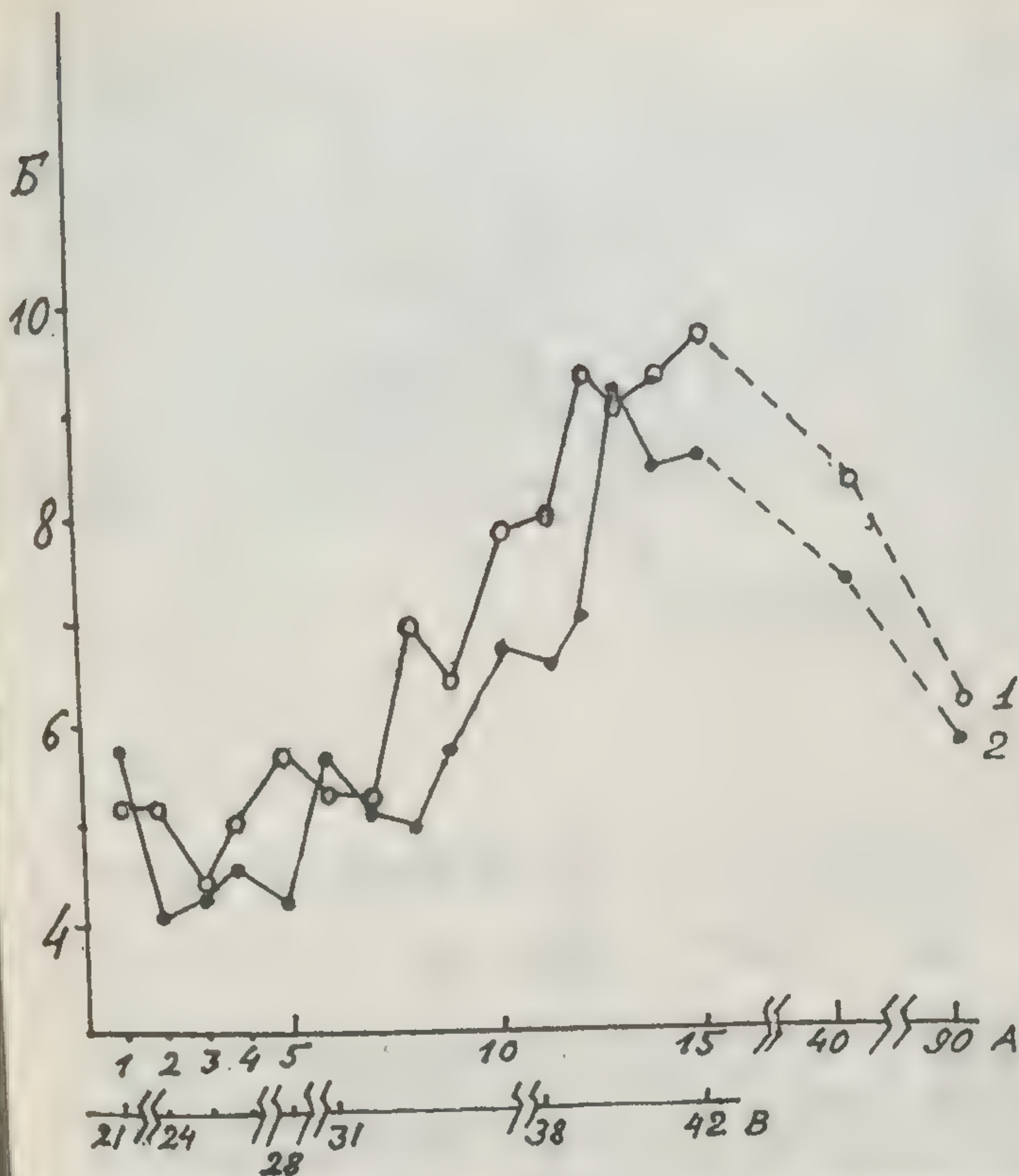


Рис.24. Обучение крыс задаче зрительной дискриминации с положительным подкреплением: А – дни обучения, Б – критерий степени обучения, В – дни после введения адьюванта; 1 – контроль (5 животных), 2 – адьювант (7 животных). Сплошная линия – обучение, пунктир – угасание

совпадает, по-видимому, с "классической" КП с продолжительностью менее 1 с, – в нее входят механизмы, указанные выше в пунктах 1–2; вторая – ОП–II, описанная в пп. 3–4, может распространяться по крайней мере на период, измеряемый минутами, если учесть известные данные о сроках полураспада олигопептидов; третья форма ОП–III (п.5а) может охватывать 10–20-минутный интервал. Что касается предполагаемых форм ОП, связанных с синтезом нейроспецифических белков и их фиксацией в мембранах синапса (пп.5б–6),

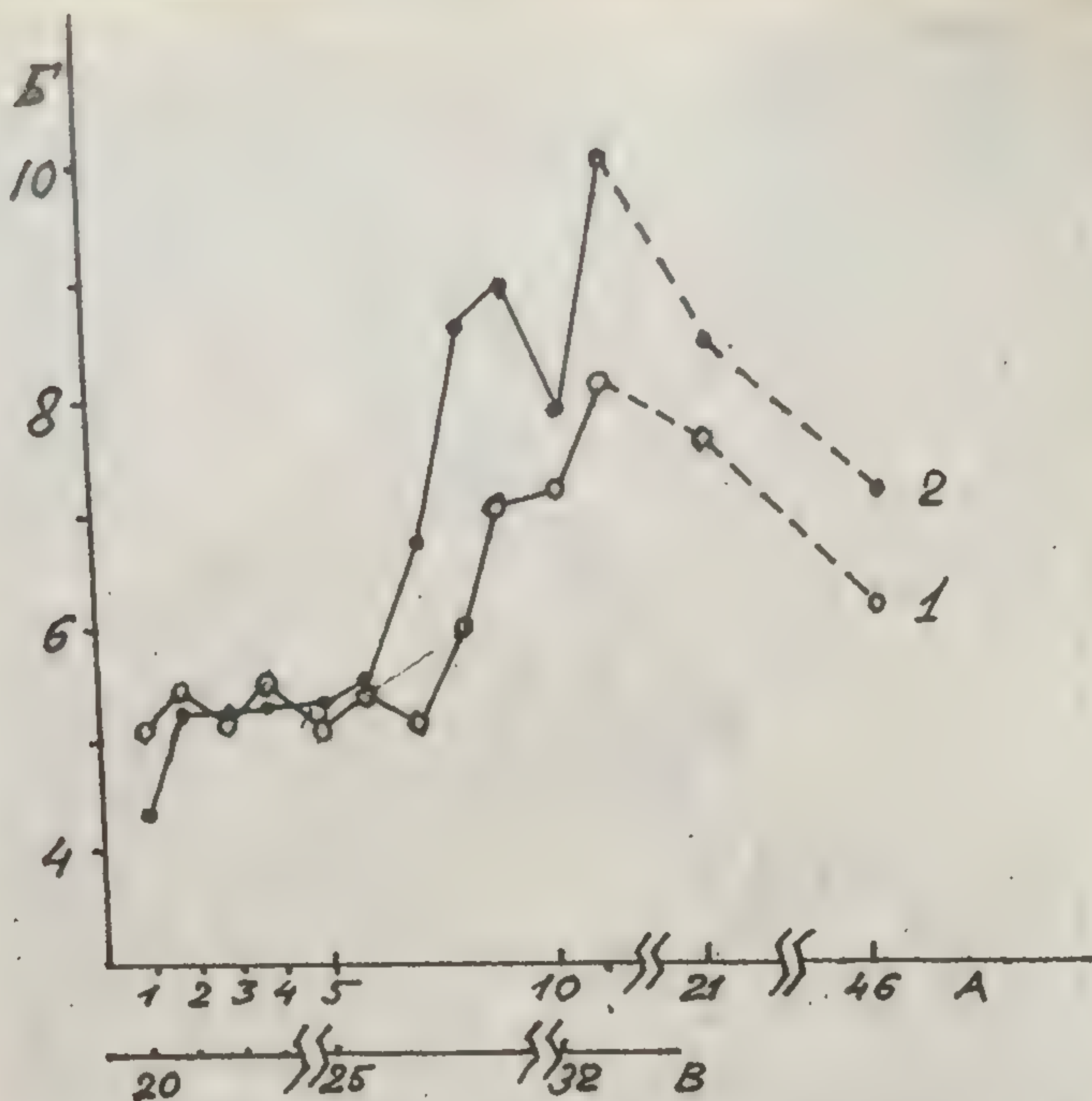


Рис.25. Обучение крыс задаче зрительной дискриминации с отрицательным подкреплением: А – дни обучения, Б – критерий степени обучения, В – дни после введения адьюванта, 1 – контроль (5 животных), 2 – адьювант (5 животных). Сплошная линия – обучение, пунктир – угасание

то пока неясно, следует ли предполагать, что за этим стоят две качественно различных ОП или единая форма ОП. Если во время процессов, описанных в п.56, образуются белки, сравнительно быстро распадающиеся или фиксируемые мембраной на незначительное время, то вероятная продолжительность соответствующей формы ОП (IV) будет, по-видимому, измеряться часами или несколькими сутками. Возможно также, что достижение в этот же период максимального содержания долгоживущих белков (S.-100; 14-3-2) ведет к особенно высокому уровню "готовности" синапса к проведению импульса, что позволяет отличить эту стадию от последующей, описанной в п.6. Однако, вряд ли целесообразно, не располагая более определенным фактическим материалом, пытаться сейчас решать вопрос о единстве или двойственности форм ОП, связанных с синтезом белка. Оценивая все

представленные предположения, необходимо подчеркнуть, что их смысл состоит в первичном биохимическом обосновании гипотезы о множественности форм ОП, а не в попытке отстаивать конкретные формы ОП. В изложенном обосновании возможной множественности форм ОП не фигурируют "надбиохимические" физиологические гипотезы памяти, например, весьма популярная гипотеза о реверберации импульсов. Они не только не противоречат развиваемым в настоящей статье представлениям, но даже могут вести к дальнейшему дроблению форм ОП.

Для решения задач фармакологического воздействия на память далеко не безразлично, имеет ли она в основе унитарный или множественный механизм. В последнем случае открывается больший простор для поисков новых стимуляторов памяти.

А

ации с от-
критерия
1 - конт-
плошная ля-

стоят две
во время
льно быстро
льное время
ОП (IV)
и сутками
имального
ет к особе
мпульса
ой в п. 6
еделенным
единстве

УЧАСТИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА В МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОПЕПТИДОВ НА ПРОЦЕССЫ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ

Р.И. Кругликов

Высокая биологическая активность разных классов нейропептидов, многообразие вызываемых ими эффектов придает изучению механизмов их действия первостепенное значение. Содержась в головном мозгу в концентрациях, в 1000 раз меньших, чем концентрация моноаминов и 100 000 раз меньших, чем концентрация медиаторных аминокислот (Hökfelt et al., 1980), нейропептиды оказывают мощное регулирующее действие на все стороны деятельности мозга, и особенно — на его высшие интегративные функции, процессы обучения и памяти. Есть много оснований полагать, что в реализации эффектов нейропептидов, в том числе на процессы обучения и памяти, существенная роль принадлежит нейромедиаторным системам головного мозга.

Моноаминергические механизмы действия вазопрессина на процессы обучения и памяти

Представление об участии моноаминергических (МА) систем мозга в механизмах действия вазопрессина (и его аналогов) на процессы обучения и памяти последовательно развивается Ковачем (Kovács et al., 1979; 1980 а,б; Telegdy, Kovács, 1979). Сопоставлялось влияние вазопрессина (и его аналогов) на содержание и метаболизм моноаминов в отдельных церебральных структурах и на процессы обучения и памяти. Установлено, что однократное введение лизин-8-вазопрессина (ЛВП) за 10 мин до декапитации не изменяет содержания НА в гипоталамусе, септуме, стриатуме и среднем мозгу, содержание ДА в этих структурах снижается. Исследовалось также влияние ЛВП на скорость снижения содержания КА в мозгу в условиях подавления их синтеза α -метил-р-тирозином (α -МТ). В этих условиях ЛВП повышает кругооборот ДА в септуме и стриатуме, а НА — только в гипоталамусе, содержание серотонина (5-ОТ) при этом не изменялось. Выработка активного избегания (АИ) под влиянием ЛВП не изменялась, а под влиянием α -МТ существенно замедлялась. Введение ЛВП животным, получавшим α -МТ, предотвращало эффекты последнего. Этот факт отражает одно из важных свойств биологического действия пептидов: эффект отсутствует при введении пептида интактным животным, но четко выражен при введении животным с измененным функциональным состоянием мозга. В то же время ускорение угашения АИ, достигавшееся введением α -МТ, не предотвращалось введением ЛВП. На выработку условных рефлексов пассивного избегания (ПИ) ЛВП и α -МТ не оказывают влияния, но угашение ПИ замедляется под влиянием ЛВП и не изменяется под влиянием α -МТ. Однако эффект ЛВП — замедление угашения — полностью предотвращается при предварительном введении α -МТ. Отсюда сле-

дует, что для реализации влияния ЛВП на воспроизведение энграммы необходимо полноценное функционирование катехоламинергических механизмов мозга.

При изучении взаимодействия нейропептидов и нейромедиаторных систем важно учитывать топографические аспекты этого взаимодействия. Показано (Wimersma-Greidanus, De Wied, 1977), что повреждение роstralной септальной области и антеродорсального гиппокампа полностью, а парафасцикулярной области таламуса — частично предотвращает влияние вазопрессина на угашение активного избегания. Локальное введение аргинин-8-вазопрессина (АВП) в дорсальное ядро перегородки, гиппокамп или дорсальное ядро шва улучшает сохранение пассивного избегания. Введение его в центральное ядро миндалины не оказывает никакого эффекта. Окситоцин улучшает сохранение ПИ при введении в дорсальное ядро перегородки и ухудшает сохранение ПИ при введении в зубчатую фасцию и дорсальное ядро шва. Высказано допущение (Kovács et al., 1979), что структуры, чувствительные к действию АВП, получают норадренергическую иннервацию из восходящего НА-ергического пути, а также вазопрессин — и окситоцинергическую иннервацию — за счет экстрагипоталамических волокон, образующих в названных структурах синаптические контакты. Введение 6-оксидофамина (6-ОН-ДА) в дорсальный НА-ергический пучок предотвращало облегчающее влияние ЛВП на процесс консолидации, но мало сказывалось на его влиянии на воспроизведение ПИ. Это указывает на разное нейрохимическое обеспечение процессов консолидации и воспроизведения временных связей. Повреждение восходящего серотонинергического пути 5,6-дигидрокситриптамином (5,6-ДГТ) не препятствовало "улучшающему" действию ЛВП на процесс консолидации. Введение АВП непосредственно в *locus coeruleus* (LC) после выработки УРПИ не влияет на его сохранение, в то время, как введение АВП в структуры, содержащие терминали НА-ергических нейронов (перегородка, гиппокамп, дорсальное ядро шва), улучшает сохранение этого рефлекса. Следовательно, точкой приложения АВП являются НА-ергические терминали, через которые могут включаться другие звенья нейрохимического обеспечения процесса консолидации. К телам нейронов ядер шва, дающих начало восходящим серотонинергическим проекциям, подходят терминали НА-ергических нейронов из LC, модулирующие активность 5-ОТ-ергических нейронов. Такая организация ядер шва позволяет избирательно с помощью нейротоксинов разрушать либо тела серотонинергических нейронов, либо НА-ергические терминали, и на этом фоне исследовать эффекты АВП. Разрушение тел серотонинергических нейронов (введение 5,6-ДГТ), так и НА-ергических терминалей (введения 6-ОН-ДА) предотвращает облегчающее действие АВП на процесс консолидации. Анализ этих данных (Kovács et al., 1980b) указывает на первичное действие АВП на НА-ергические терминали и вторичное (опосредованное через НА терминали) действие на тела серотонинергических нейронов. Следовательно, ключевым этапом влияния вазопрессина на процесс консолидации является облегчение синаптической передачи в лимбических и средне-мозговых терминалях дорсального НА-ергического пути. На этом эта-

пе включаются другие нейромедиаторные системы, непосредственно причастные к процессу консолидации, в частности, серотонинергическая система. Представления об участии НА-ергической системы мозга в механизмах действия вазопрессина, на наш взгляд, отражают более общую закономерность, состоящую в том, что норадренергическая система выполняет роль своеобразного передаточного механизма, запускающего процесс консолидации, и, возможно, контролирующего его реализацию (Кругликов, 1981). Использовался (Kovács et al., 1980a) также более адекватный экспериментальный прием с применением антисыворотки к аргининвазопрессину. Введение этой антисыворотки в дорзальное ядро шва глубоко нарушало сохранение ПИ. Это означает, что нейроны этого ядра в нормальных условиях испытывают вазопрессинергические влияния, которые необходимы для реализации участия этих нейронов в процессе консолидации.

Исследование участия моноаминергических систем
мозга в механизмах действия аналогов вазопрессина
на процессы обучения и памяти

В наших исследованиях, проведенных совместно с В.М.Гецовой, Н.В.Орловой и Е.В.Сарычевым, использовались различные варианты оборонительных условных рефлексов (условные рефлексы пассивного избегания, УРПИ; условные рефлексы двустороннего избегания, УРДИ; условные рефлексы, вырабатывающиеся в У-образном лабиринте — лабиринтные оборонительные условные рефлексы, ЛОУР). Сопоставлялось влияние различных аналогов вазопрессина (введение сразу после выработки УРПИ) на сохранение этого рефлекса через 2 недели после выработки. Использовались дес-9-глицил-8-аргинин-вазопрессин (ДГ-ДВП), тетраглицилдес-9-глицил-8-аргининвазопрессин (4 ГДГ-АВП), дес-9-глицил-2-фенилаланин-8-орнитинвазопрессин (ДГФ-ОВП), синтезированные О.С.Папсуевичем в Институте органического синтеза АН Латв.ССР, и триглицилдесглициламилизин-8-вазопрессин (3 ГДГА-ЛВП), синтезированный К.Йоштом в Институте органической химии и биохимии АН ЧССР. Поскольку наиболее выраженное улучшение сохранения УРПИ наблюдается при введении 3 ГДГА-ЛВП, для последующих исследований был избран этот аналог вазопрессина, вводившийся подкожно в дозе 10 мкг сразу после сеанса обучения. Для выработки ЛОУР беспородных крыс (150-180 г) помещали в один из ходов У-образного лабиринта, и в одном из двух других ходов включался свет (на 5 с), одновременно на пол лабиринта подавался электрический ток. Реакция избавления могла осуществляться только путем побежки в освещенный ход, побежка в неосвещенный ход сопровождалась электрокожным раздражением (ЭКР). Условными реакциями избавления считали безошибочные побежки в освещенный ход, наступавшие при кратковременных ЭКР. Выработку ЛОУР осуществляли до критерия 5 правильных реакций из 6, интервалы между сочетаниями — 30-90 с. Проверку сохранения ЛОУР и его устойчивость к угашению оценивали путем нанесения ЭКР и регистрации возникавших при

Число неправильных реакций

Дни

Группы животных

6

5

4

3

2

1

Таблица 1. Влияние введения 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП

Таблица 1. Влияние введения 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП на сокращение ЛОУР и его устойчивость к угашению

Группы животных	Число неправильных реакций					
	Дни					
	1	2	3	4	5	6
I. Контроль (введение физраствора)						
Интактные животные (n = 15)	5,51 ± 0,60	6,65 ± 0,60	6,03 ± 1,32	6,21 ± 1,14	7,30 ± 1,61	6,32 ± 1,03
Разрушение Л.С. (n = 15)	6,82 ± 1,07	7,26 ± 1,14	7,12 ± 1,17	7,72 ± 0,81	8,45 ± 1,34	8,81 ± 0,67
II. 3 ГДГА-ЛВП						
Интактные животные (n = 15)	3,05 ± 0,29*	2,95 ± 0,50*	2,97 ± 0,21*	2,17 ± 0,29*	2,62 ± 0,36*	2,10 ± 0,31*
Разрушение Л.С. (n = 15)	4,11 ± 0,40*	3,35 ± 0,35*	3,40 ± 0,50*	2,93 ± 0,75*	1,81 ± 0,20*	2,35 ± 0,51*

* $p < 0,05$, по сравнению с животными, получавшими физраствор.

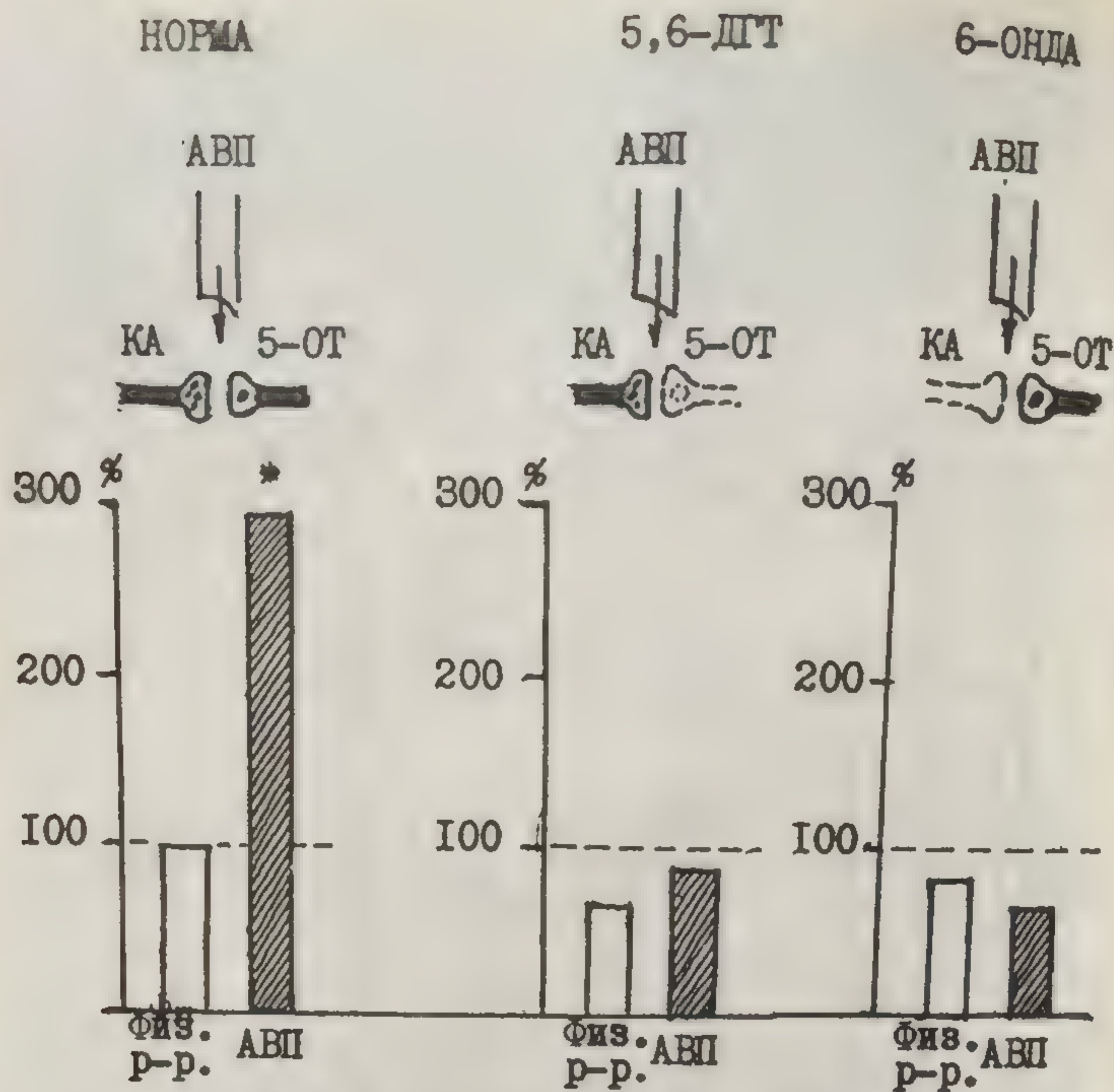


Рис.26. Влияние микроинъекции аргинин-8-вазопрессина в дорсальное ядро шва на процесс консолидации: взаимодействие с локальным введением нейротоксинов. Норма: аргинин-8-вазопрессин (50 нг) был введен в дорсальное ядро шва сразу после выработки пассивного избегания, сохранение которого проверялось через 24 ч. Латентный период избегания выражен в % по отношению к животным, получавшим физраствор 5,6-ДТТ: серотонинергический нейротоксин (10 мкг) был введен в ядра шва за 10 дней до выработки пассивного избегания, 6-ОНДА: катехоламинергический нейротоксин (10 мкг) был введен в ядра шва за 10 дней до выработки пассивного избегания (по Kovacs, Bohus, Versteeg, 1980)

этом реакций - независимо от того, осуществлялись ли они в освещенный или в неосвещенный ход, побежки в неосвещенный ход не наказывались. Собственно сохранение ЛОУР оценивали по количеству ошибочных реакций, наблюдавшихся в первом после выработки опытом сеансе, включавшем 20 ЭКР. Устойчивость сформировавшейся временной связи оценивали по количеству ошибочных реакций в каж-

Рис.27. Влияние ботки лабиринтной системы на сохранение этого раствора физраствора животным. ГДА-ЛВП интактно животным с раз-

Число
ошибочных
реакций

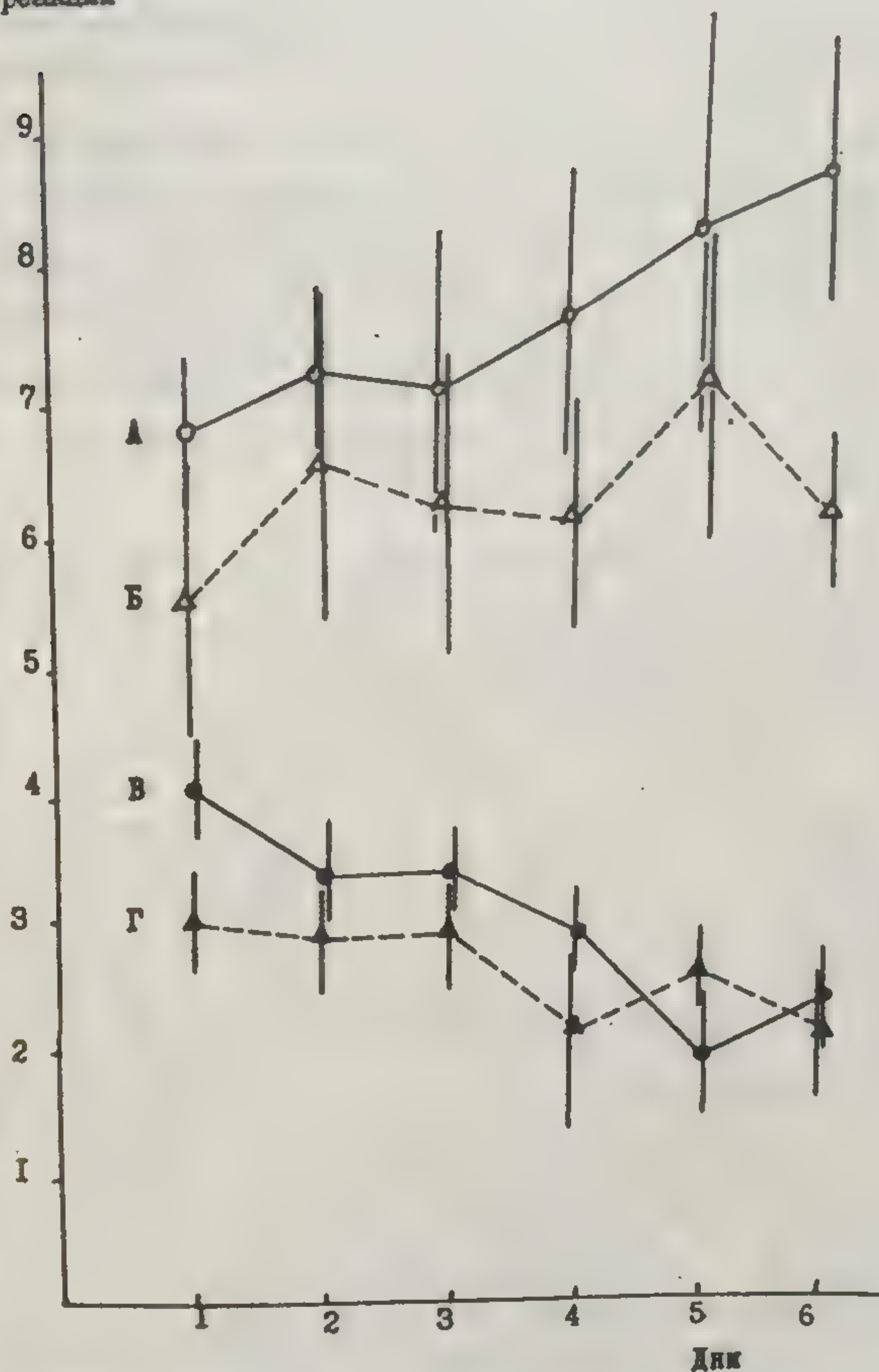


Рис. 27. Влияние введения 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП после выработки лабиринтного оборонительного условного рефлекса на сохранение этого рефлекса и его устойчивость к угашению: А - введение физраствора интактным животным; Б - введение физраствора животным с разрушенными Л.С.; В - введение 3 ГДГА-ЛВП интактным животным; Г - введение 3 ГДГА-ЛВП животным с разрушенными Л.С.

дом из 5 последующих опытных сеансов, состоявших из 20 ЭКР. Для снижения содержания НА в головном мозгу у подопытных животных проводили электролитическое двустороннее разрушение L.C. с последующим морфологическим контролем. Результаты экспериментов представлены в табл.1 и на рис.26.

Введение интактным животным и животным с разрушенным L.C. 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП сразу после сеанса обучения примерно в равной мере улучшает закрепление соответствующей временной связи (табл.1). Это проявляется в существенном ($p < 0,05$) снижении числа ошибочных реакций через сутки после выработки по сравнению с "контрольными" животными (получавшими физиологический раствор). В последующих 5 опытных сеансах по угашению ЛОУР количество ошибочных реакций у интактных и оперированных контрольных животных закономерно возрастает, а у получавших 3 ГДГА-ЛВП столь же закономерно снижается (рис.27).

Анализ динамики угашения ЛОУР выявляет ряд интересных фактов. На 6-й день угашения число ошибочных реакций у оперированных животных возрастает по сравнению с 1 днем на 29 %, а у интактных — лишь на 14 %. Это означает, что разрушение снижает устойчивость временной связи к угашению, которое у оперированных животных развивается более интенсивно, чем у интактных. В то же время под влиянием 3 ГДГА-ЛВП число ошибочных реакций у оперированных животных снижается от 1 опыта к 6 дню до 57 % от исходного уровня (т.е. на 43 %), а у интактных животных — до 68 % от исходного уровня (на 32 %). Иными словами, по мере повторных сеансов устойчивость временной связи к угашению у оперированных животных возрастает в большей мере, чем у интактных. Создается впечатление, что по этому тесту оперированные животные от введения 3 ГДГА-ЛВП выигрывают больше, чем интактные, и что степень этого выигрыша пропорциональна степени снижения устойчивости к угашению в случае введения оперированному животному не 3 ГДГА-ЛВП, а физиологического раствора. Если факт постепенного угашения ЛОУР у интактных и оперированных контрольных животных вполне естественен и закономерен, то факт нарастающей устойчивости к угашению у животных, получавших 3 ГДГА-ЛВП необычен. Возможно, за счет высокой исходной грочности энграммы, ее успешное воспроизведение в каждом сеансе угашения содержит элементы дополнительного упрочения ЛОУР, так что в итоге к концу курса угашений энграмма оказывается прочнее, чем в его начале. Таким образом, у животных, получавших 3 ГДГА-ЛВП, отмечено улучшение сохранения энграммы как через сутки после ее формирования, так и повышенная ее устойчивость к угашению.

С целью более детальной оценки состояния энграммы в поздние сроки после ее формирования через 2,3 и 4 нед. после выработки ЛОУР проводили по 1 сеансу проверки его сохранения, в каждом из которых животным предъявляли по 20 ЭКР и регистрировали количество правильных и неправильных реакций (не наказывая побегов в неосвещенный ход). Одновременно регистрировали длительность ЭКР, необходимую для осуществления условной реакции избегания. Как вид-

Группы животных	Показатель	Дни			Число ошибочных реакций животных
		14	21	28	
Контроль (введение физиологического раствора)					8,36 ± 0,64
Оперированные животные					6,81 ± 1,31

Таблица 2. Влияние однократного введения 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП на сохранение ЛОУР через разные сроки после выработки

Группы животных	Показатель	Дни		
		14	21	28
Контроль (введение физраствора)				
Интактные животные (n = 8)	Число ошибочных реакций	6,14 ± 1,15	6,81 ± 1,31	8,36 ± 0,64
	Длительность ЭКР (с)	3,82 ± 1,11	3,80 ± 0,69	3,02 ± 0,41
Разрушение (n = 8) L.C.	Число ошибочных реакций	7,62 ± 1,11	7,55 ± 0,53	7,26 ± 1,06
	Длительность ЭКР (с)	7,25 ± 1,20*	8,46 ± 2,11*	6,53 ± 1,07*
Введение 3 ГДГА-ЛВП				
Интактные животные (n = 7)	Число ошибочных реакций	4,50 ± 1,15	5,25 ± 0,38	6,75 ± 0,88
	Длительность ЭКР (с)	4,35 ± 0,37	3,81 ± 0,88	4,31 ± 0,45
Разрушение (n = 9) L.C.	Число ошибочных реакций	5,40 ± 0,72	5,60 ± 1,59	7,03 ± 2,31
	Длительность ЭКР (с)	5,14 ± 0,62	4,22 ± 0,54	2,96 ± 0,42

118

*

* p < 0,05 по сравнению с интактными животными.

но из табл. 2, и в отдаленные сроки после выработки сохранения ЛОУР, судя по числу ошибочных реакций, у животных, получавших 3 ГДГА-ЛВП, несколько лучше, чем у животных, получавших физиологический раствор. У животных с разрушенными Л.С. обнаруживается тенденция к увеличению количества ошибочных реакций (этот показатель у оперированных животных в 5 случаях из 6 выше, чем у интактных животных). У оперированных контрольных животных число ошибочных реакций остается неизменно высоким во все исследованные сроки, и при введении 3 ГДГА-ЛВП количество ошибочных реакций еще остается сниженным через 14 дней, но возрастает к 28 дню. В результате этого тенденция к улучшению сохранения ЛОУР через 28 дней после выработки у интактных животных, получавших 3 ГДГА-ЛВП, по сравнению с интактными контрольными животными, еще остается достаточно выраженной. У оперированных животных эта тенденция, отчетливая через 14 дней после исходного обучения, практически исчезает к 28 дню (число ошибочных реакций у оперированных животных, получавших физраствор, составляет в этот срок 7,26, а у получавших 3 ГДГА-ЛВП — 7,03). Отсюда следует, что одним из условий длительного сохранения эффектов 3 ГДГА-ЛВП является полноценное функционирование норадренергической системы мозга.

Длительность ЭКР, необходимая для осуществления условной реакции избавления у оперированных животных, получавших физиологический раствор намного больше, чем у соответствующих интактных животных. Введение 3 ГДГА-ЛВП снижает длительность ЭКР у оперированных животных, причем эта длительность от 14-го к 28-му дню существенно ($p < 0,05$) снижается. Следовательно, введение 3 ГДГА-ЛВП способно "сдерживать" рост длительности ЭКР, вызываемый разрушением Л.С., т.е. оказывает своеобразное "лечебное" действие, не выявляемое у интактных животных. У оперированных животных, получавших 3 ГДГА-ЛВП, снижению длительности ЭКР от сеанса к сеансу соответствует тенденция к нарастанию числа ошибочных реакций, т.е. динамика числа ошибочных реакций у оперированных животных отражает иные свойства сохранения ЛОУР, чем динамика ЭКР. Вполне вероятно, что число неправильных (ошибочных) реакций отражает состояние зрительной дифференцировки, в то время, как длительность ЭКР и ее динамика — состояние и продолжающуюся выработку собственно условной реакции избавления. Можно думать, что введение 3 ГДГА-ЛВП животным с разрушенными Л.С. в поздние сроки уже не сказывается на более сложных компонентах целостного условного рефлекса, но еще в какой-то мере сказывается на его более элементарных компонентах. Наши данные, согласно которым снижение содержания НА в головном мозгу (при разрушении Л.С.) не препятствует облегчающему влиянию аналога вазопрессина на процесс консолидации (хотя и несколько снижает эффективность этого влияния), в определенной мере противоречат данным Коваца и соавт. Различия видимо связаны с тем, что в исследованиях Коваца использовали условные рефлексы пассивного избегания, а в наших — активного избегания. В основе этих двух типов оборонительного поведения лежат разные нейрохимические механизмы (Allen et al., 1974), что может обусловить и различие эффектов

Помимо
локальных
применялось
уст
повышения уст
вазопрессина
Е.М. Геновой) на
Введение крыс
3 ГДГА-
0 мг 3 ГДГА-
временной связ
выражен чере
УРДИ. Этот ф
введения 3 Г
какую-то об
прессина. Не искл
самоусиления
механизмов
и в норме этот
во времени под вл
наши данные
введение к
активности ац
УР и введении 3 Г
тельной коре и
ти временной связ
ерждает данные, по
прессина (De Wied,
тать, что точкой
вазопрессина, являет
вне эффекта повыш
рез 1 сут и его ч
загает вопрос о де
Можно полагать
льше, чем это при
тельности этого про
анесением амнезир
ающего эффектив
зуют соответствую
амо, не вполне аде
процесса консолида
тивных этапов.
В нейрохимическ
принадлежит о
ков, 1981), опти
тельности, оптималь
одимым условием
введения 3 ГДГА-ЛВП
Е.О.Ф., не только
петтида на про
связи к

вазопрессина. Помимо этого, в большинстве исследований Kovács| использовались локальные внутримозговые введения вазопрессина, а в наших — применялось подкожное введение этого пептида.

Факт повышения устойчивости временной связи к угашению под влиянием вазопрессина подтвержден в наших исследованиях (совместно с В.М.Гецовой) на модели условных рефлексов двустороннего избегания. Введение крысам сразу после выработки двустороннего избегания 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП резко повышает устойчивость сформировавшейся временной связи к угашению. Эффект отсутствует через 1 сут, но четко выражен через 2 и в особенности — через 7 сут, после выработки УРДИ. Этот факт аналогичен данным о "самоусилении" ЛОУР в случае введения 3 ГДГА-ЛВП сразу после обучения и, по-видимому, отражает какую-то общую закономерность биологического действия вазопрессина. Не исключено, что в основе этой закономерности лежит феномен самоусиления энграммы, связанный с деятельностью холинергических механизмов мозга. Наблюдающийся при определенных условиях и в норме этот феномен может, вероятно, усиливаться и смещаться во времени под влиянием нейропептидов. В этой связи заслуживают внимания наши данные (Т.Н.Диш и С.К.Дамитова), выявившие, что подкожное введение крысам 10 мкг 3 ГДГА-ЛВП само по себе не изменяет активности ацетилхолинэстеразы, но при сочетании выработки ЛОУР и введении 3 ГДГА-ЛВП активность АХЭ в двигательной и зрительной коре и гиппокампе возрастает. Факт повышения устойчивости временной связи к угашению под влиянием 3 ГДГА-ЛВП подтверждает данные, полученные при использовании других аналогов вазопрессина (De Wied, Bohus, 1966; Rigter, Grabbe, 1979) и позволяет считать, что точкой приложения 3 ГДГА-ЛВП, как и других аналогов вазопрессина, является процесс консолидации. В то же время отсутствие эффекта повышения устойчивости временной связи к угашению через 1 сут и его четкая выраженность через 2 сут (и позднее) выдвигает вопрос о действительной длительности процесса консолидации. Можно полагать, что процесс консолидации длится значительно дольше, чем это принято считать. Обычно используемый критерий длительности этого процесса — интервал между завершением обучения и нанесением амнезирующего воздействия или применением фактора, повышающего эффективность консолидации, при котором уже не наблюдаются соответствующие изменения сохранения временной связи, видимо, не вполне адекватен. Он отражает, вероятно, не завершение процесса консолидации, а лишь состояние его начальных наиболее реактивных этапов.

В нейрохимическом обеспечении процесса консолидации ключевая роль принадлежит серотонинергическим механизмам мозга (Кругликов, 1981), оптимальное функциональное состояние которых и, в частности, оптимальный диапазон концентраций 5-ОТ, является необходимым условием полноценного протекания этого процесса. При введении 3 ГДГА-ЛВП животным, предварительно получившим 100 мкг/кг 5-ОТФ, не только полностью предотвращается усиливающее влияние пептида на процесс консолидации и повышение устойчивости временной связи к угашению, но наблюдается даже явное ускорение угаше-

ния ранее выработанной временной связи. Это свидетельствует об участии серотонинергических механизмов мозга в механизмах действия вазопрессина на процессы обучения и памяти.

Исследование участия моноаминергических систем мозга в механизмах действия эндогенных опиоидов на процессы обучения и памяти

Другим классом нейропептидов, влияние которых на процессы обучения и памяти изучено в более или менее достаточной степени, являются эндогенные опиоиды – эндорфины и энкефалины (Ашмарин, 1977; Кругликов и соавт., 1980; Izquierdo et al., 1981 и др.). Хотя взаимодействию эндогенных опиоидов с "классическими" нейромедиаторами посвящено значительное количество исследований, роль этого взаимодействия в процессах обучения и памяти практически не изучена. Наибольший интерес в этом отношении представляют данные о влиянии опиоидов на КА-ергические системы мозга, поскольку КА-ергическим механизмам придается важное значение в процессахощерения и подкрепления (с. Vise, 1978), а церуло-кортикальная НА-ергическая система оказывает существенное регулирующее влияние на функциональные и хеморецептивные свойства кортикальных нейронов (с. Кругликов, 1981). Показано наличие большого количества опиатных рецепторов на нейронах L.C. (Pert et al., 1976). Выявлено ингибирующее влияние морфина и эндорфинов на спонтанную активность этих нейронов (с. Strahlendorf et al., 1980) и способность опиоидов вызывать гиперполяризацию нейронов L.C. в опытах *in vitro*. Идентифицированы пресинаптические опиатные рецепторы на терминалях центральных НА-ергических нейронов (Taube et al., 1977). Обнаружено (Nakamura et al., 1982), что под влиянием локального подведения морфина и D-Ala², Met⁵-энкефалинамида (стабильного аналога метэнкефалина) существенно снижается возбудимость терминалей нейронов L.C. во фронтальной коре, о чем судили по возрастанию силы тока, необходимого для получения антидромных ответов в нейронах L.C. при электрической стимуляции фронтальной коры. В этих условиях налоксон у половины исследованных нейронов L.C. повышал, а не снижал возбудимость терминалей. Это свидетельствует, по мнению авторов, о тоническом угнетении терминалей НА-ергических нейронов эндогенными опиоидами. Указанное заключение согласуется с наблюдениями (Izquierdo, Graudenz, 1980), показавшими, что облегчающее влияние налоксона на процесс консолидации блокируется галоперидолом или пропранололом, но не феноксiben-замином. Следовательно, эффекты блокады опиоидных рецепторов налоксоном опосредуются ДА-ергической и α -, но не β -адренергической системами: налоксон высвобождает эти системы из-под тонического угнетения эндогенной опиоидной системой. Введение совместно с неэффективной дозой налоксона (0,2 мг/кг) неэффективных доз амфетамина (2,5 мг/кг), высвобождающего ДА и НА, или никотина (0,5 мг/кг), высвобождающего НА, сразу после обучения улучшает

сохранение энграммы, т.е. повышает эффективность процесса консолидации.

В наших исследованиях, проведенных совместно с Н.В.Орловой и В.М.Гецовой выявлена выраженная зависимость влияния мет-энкефалина (мет-Э) на процессы обучения и памяти от состояния МА-ергических систем головного мозга. Мет-энкефалин (25 мкг) вводили крысам подкожно за 10 мин до начала выработки УРДИ. В первом и втором опытных сеансах (интервал 7 сут) животным предъявляли по 50 сочетаний света и электрокожных раздражений (ЭКР) и регистрировали количество условных реакций избегания. О выработке УРДИ судили по числу избеганий в первом сеансе, а о его сохранении — по числу избеганий во втором. Снижение содержания 5-ОТ в мозгу достигалось электролитическим разрушением ядер шва или подавлением синтеза 5-ОТ парахлорфенилаланином, (ПХФА). Для повышения содержания 5-ОТ в мозгу вводили 5-окситриптофан (5-ОТФ). Снижение содержания НА в мозгу достигалось электролитическим разрушением L.C. или подавлением синтеза НА дисульфидом. Для повышения содержания КА в головном мозгу вводили 1-ДОФА. Первоначально осуществлялось вмешательство в деятельность МА систем, а затем — перед исходным опытом — вводился мет-Э. У интактных животных мет-Э (25 мкг) резко нарушал выработку и ухудшал сохранение УРДИ. Такой же эффект наблюдался при снижении или повышении содержания 5-ОТ в мозгу. Введение мет-Э на фоне снижения содержания 5-ОТ в мозгу не оказало влияния на выработку и сохранение УРДИ. Избыток 5-ОТ в мозгу полностью предотвращал отрицательное влияние мет-Э на выработку и сохранение УРДИ. Такие же отношения наблюдались при введении мет-Э животным, которым предварительно вводили дисульфид или 1-ДОФА: в первом случае модификации отрицательных эффектов мет-Э не отмечалось, но во втором — при предварительном введении 1-ДОФА — отрицательные эффекты мет-Э полностью предотвращались. Можно было предположить, что предотвращение отрицательных эффектов мет-Э созданием избытка КА или 5-ОТ в головном мозгу связано с тем, что вызываемые мет-Э нарушения обучения и памяти обусловлены снижением уровня МА в мозгу. Однако, проведенные нами исследования показали, что мет-Э в использованной дозе не влияет на содержание НА и 5-ОТ в цельном мозгу. Следует, однако, учитывать, что вызываемые нейропептидами региональные изменения содержания моноаминов могут не отражаться на их уровне в целом мозге.

х х
х

Представления об участии нейромедиаторных систем в механизмах действия нейропептидов на процессы обучения и памяти порождают ряд вопросов. Требуется углубленного анализа роль и особенности действия нейропептидов в условиях нормального и измененного функционирования мозга. Имеются отдельные указания на более выраженное действие пептидов при измененном функциональном состоянии мозга (Rigter, Grabbe, 1979; Telegdy, Kovács, 1979). Такого рода факты

в виде сокращения длительности ЭКР, необходимого для осуществления условной реакции избавления при введении аналога вазопрессина животным с разрушенными L.C. при отсутствии такого эффекта у интактных животных, наблюдались и нами. Обнаружено также, что направленность влияния метэнкефалина на процессы обучения и памяти зависит от особенностей этих процессов и носит различный характер у хорошо и плохо обучающихся животных (Кругликов и соавт., 1980). Последний факт аналогичен наблюдениям на людях, согласно которым аналог АКТГ в большей мере улучшает показатели умственной деятельности у людей с более низкими показателями этой деятельности (Rigter, Grabbe, 1979). Являются ли приведенные факты случайными находками или за ними кроется одна из важных закономерностей биологического действия пептидов? Этот вопрос представляется достаточно принципиальным и заслуживает специального и углубленного исследования. Его решение сопряжено с выяснением зависимости эффектов нейропептидов от индивидуальных особенностей экспериментальных объектов и, в частности, от функционального состояния нейромедиаторных систем. Специального исследования требует вопрос о том, испытывают ли нейромедиаторные системы постоянное тоническое влияние пептидергических механизмов (Kovács et al., 1980; Izquierdo, Graudenz, 1980), или же это влияние инициируется функциональной нагрузкой (Vizi, 1979)? Решение этих вопросов может в значительной степени способствовать уточнению действительной роли нейромедиаторных систем мозга в механизмах действия нейропептидов на процессы обучения и памяти.

Адренкорти
ыми клетками
связанная в стр
синтеза глюко
лучена доволь
гормон и его
которых функций
связано с его
действия АКТИ
структурно ро
котропной акти

(De Wied, Gispr

Первые дан
лучены на ги
снижает скор
ния животным
неприятного
адеогипофиз
пептида восс
полненные на
нование пред
дения или хр
именно, заде
время сеан
выка. В пол
свидетельств
(De Wied, Gi
ляется при
том на восс
о влиянии ф
памятного

Результ
АКТГ (на

в Т-образн
влияние со
нег
с

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФРАГМЕНТОВ АКТГ

Л. В. Антонова, А. А. Каменский

Участие АКТГ и его фрагментов в модуляции процесса обучения

Адренокортикотропный гормон (АКТГ) вырабатывается базофильными клетками передней доли гипофиза. Основная его функция, заключающаяся в стимуляции активности коры надпочечников и усилении синтеза глюкокортикоидов, названных Селье "адаптивными гормонами", изучена довольно хорошо. Работы последних лет показали, что этот гормон и его фрагменты принимают также участие и в регуляции некоторых функций ЦНС (De Wied, 1981). Причем, это действие АКТГ не связано с его гормональной активностью. Экстраадrenalовый характер действия АКТГ на ЦНС доказывается наличием такого же эффекта у и структурно родственных ему пептидов, практически лишенных кортикотропной активности, таких как α -МСГ, АКТГ₁₋₁₀, АКТГ₄₋₁₀

(De Wied, Gispen, 1977).

Первые данные о модулирующем действии АКТГ на ЦНС были получены на гипофизэктомизированных крысах. Удаление гипофиза у крыс снижает скорость приобретения навыка условнорефлекторного избегания животными в челночной камере и ухудшает пассивное избегание неприятного стимула. Доказано, что к этому эффекту имеет отношение аденогипофиз, а именно — его гормон АКТГ, так как введение этого пептида восстанавливает способность к обучению. Эксперименты, выполненные на интактных животных (De Wied, Gispen, 1977), дают основание предполагать о действии этих пептидов на процесс воспроизведения или хранения памятного следа, так как их основной эффект, а именно, задержка угасания, имеет место при введении веществ во время сеанса с выработкой угасания уже сформированного ранее навыка. В пользу действия фрагментов АКТГ на аппарат воспроизведения свидетельствует и их способность устранять ретроградную амнезию (De Wied, Gispen, 1977), так как этот антиамнезический эффект проявляется при введении пептидов не до индукции амнезии, а перед тестом на восстановление нарушенного навыка. Однако имеются данные о влиянии фрагментов АКТГ и на процессы формирования и фиксации памятного следа.

Результаты наших исследований о сроках действия фрагментов АКТГ (на примере АКТГ₄₋₁₀) на обучение крыс пищевому навыку в Т-образном лабиринте показывают, что процессы, испытывающие влияние со стороны пептидов, кратковременны и связаны с периодом, непосредственно следующим за моментом восприятия (Ашмарин и соавт., 1980). Эффективность введения АКТГ₄₋₁₀ сразу после сеансов обучения, но не позднее чем через 5 мин после окончания процедуры, свидетельствует в пользу наличия у фрагментов АКТГ действия, связанного с механизмами формирования или фиксации памятного следа. При таком способе введения пептид не может воздействовать

на процессы, предшествующие запечатлеванию ни в день введения (что исключается самым способом введения), ни на следующий день, так как нами было показано, что введение пептида уже за час до сеансов неэффективно. Таким образом, представление о том, что фрагменты АКТГ воздействуют на обучение, включаясь в механизмы запечатлевания, хранения и воспроизведения информации, находит свое экспериментальное подтверждение.

Однако, не исключается возможность модуляции обучения этими пептидами путем изменения процессов восприятия, так как существуют данные об изменении внимания, усилении "arousal", увеличении значения мотивационных стимулов. Возможно, у фрагментов АКТГ существуют два аспекта действия на ЦНС: включение их в механизмы запоминания и неспецифическая активация структур мозга, проявляющаяся в оптимизации их функций. Второй аспект действия этих пептидов подтверждается экспериментами с внутримозговым введением фрагментов АКТГ, что приводит к сильной неспецифической активации структур мозга, проявляющейся в инициации чрезвычайного груминга, синдромов потягивания, зевания. Эти реакции, как предполагается, способствуют снижению уровня возбуждения нервной системы в условиях повышенного "arousal". Интересно, что фрагмент АКТГ 4-10,

стимулирующий обучение, менее активен в отношении груминга, чем АКТГ 1-24, АКТГ 1-16, D⁷Phe-АКТГ 1-10. Это говорит о том, что стимуляция обучения пептидами имеет более специфичный характер, чем общая активация структур мозга. В пользу более специфичного включения фрагментов АКТГ в процессы обучения, чем в общее изменение физиологического состояния организма, могут свидетельствовать и наши данные об изменении показателей функционального состояния животных (частота сердечных сокращений, уровень потребления кислорода, двигательная активность) под воздействием этих пептидов (Каменский и соавт., 1980). Введение малых доз исследованных пептидов, вызывающих ускорение обучения, не сопровождается изменениями двигательной активности и вегетативных показателей. С повышением действующих доз проявляется возбуждающий эффект указанных пептидов, но обучение не стимулируется.

Связь между структурой фрагментов АКТГ и их биологической активностью

АКТГ представляет собой полипептидную цепь, состоящую из 39 аминокислотных остатков, последовательность которых в настоящее время установлена и подтверждена синтезом. Удаление с С-конца 14 аминокислот не изменяет гормональной активности АКТГ, тогда как изменение первичной структуры с N-конца приводит к биологической инактивации. Дальнейшее укорочение пептидной цепи, начиная с 24-го остатка, приводит к постепенному падению гормональной активности, которая, однако, еще проявляется фрагментом из 17 N-концевых аминокислот. В молекуле АКТГ выявлено два участка, один из которых обеспечивает нахождение рецептора и связыва-

ние гормона с ним, а другой, по-видимому, осуществляет биологический эффект АКТГ. Показано, что синтетический пептид АКТГ⁴⁻¹⁰ в котором отсутствует рецепторный участок молекулы гормона, лишен способности быстро находить рецепторы и связываться с ними на мембране клеток коры надпочечников. Вместе с тем, в суспензии этих клеток он проявляет некоторую кортикотропную активность, но в концентрации в 5-6 раз большей, чем нативный гормон. Предполагается, что последовательность АКТГ⁴⁻¹⁰ важна для проявления кортикотропной активности молекулы АКТГ, так как последовательность АКТГ⁵⁻²⁴ имеет более чем в 100 раз меньшую стероидогенную активность, чем фрагмент АКТГ⁴⁻²³ (Schwyzer, 1980). Кортикотропная активность АКТГ³⁻¹⁰, проверяемая на изолированных клетках надпочечников кроликов, составляет 10-20% от активности АКТГ¹⁻³⁹.

Однако, в ряде работ (по De Wied, Gispen 1977) не обнаружено стимулирующего эффекта на кору надпочечников у АКТГ⁴⁻¹⁰ и АКТГ¹⁻¹⁰. Предполагается, что фрагменты АКТГ⁴⁻⁹⁻¹⁰ играют триггерную роль

в осуществлении гормонального эффекта, а аминокислоты, находящиеся в 1-3 положении молекулы АКТГ, по-видимому, потенцируют этот эффект (Schwyzer, 1980). Фрагмент АКТГ¹¹⁻²⁴, не обладающий сам

по себе биологической активностью, способен вытеснять природный гормон из комплекса с рецептором. Этот фрагмент имеет сродство к рецепторам в мембране клеток коры надпочечников, противодействуя эффекту АКТГ¹⁻³⁹ и АКТГ¹⁻¹⁰ (Seelig et al., 1971). Считается,

что последовательность АКТГ¹¹⁻²⁴ служит для связывания со специфическими рецепторами в адреналовых клетках, а аминокислоты, занимающие в молекуле АКТГ положение 25-39, определяют свойства, связанные с видовой специфичностью.

Таким образом, различные последовательности аминокислот в молекуле гормона отвечают за отдельные компоненты общего биологического эффекта. Это свойство гормона может лежать в основе множественного (плейотропного) действия вещества на организм и различные ткани. В зависимости от того, с какими участками пептида будут связываться рецепторы данной структуры, будут проявляться различные функциональные свойства одной и той же молекулы гормона (Schwyzer, 1980). Возможно, влияние АКТГ и его аналогов на ЦНС, проявляющееся в изменении мотивационных процессов обучения и памяти, есть один из аспектов такого плейотропного эффекта гормона на организм.

Центр поведенческой активности молекулы АКТГ, как и гормональной, связывают с N-терминальной ее частью (De Wied, Gispen 1977). Сравнение различных фрагментов АКТГ показало, что АКТГ⁴⁻¹⁰ (Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly) является наиболее активным пептидом, который задерживает угасание рефлекса избегания, в то время как АКТГ¹¹⁻²⁴, АКТГ²⁵⁻³⁹ не эффективны в этом от-

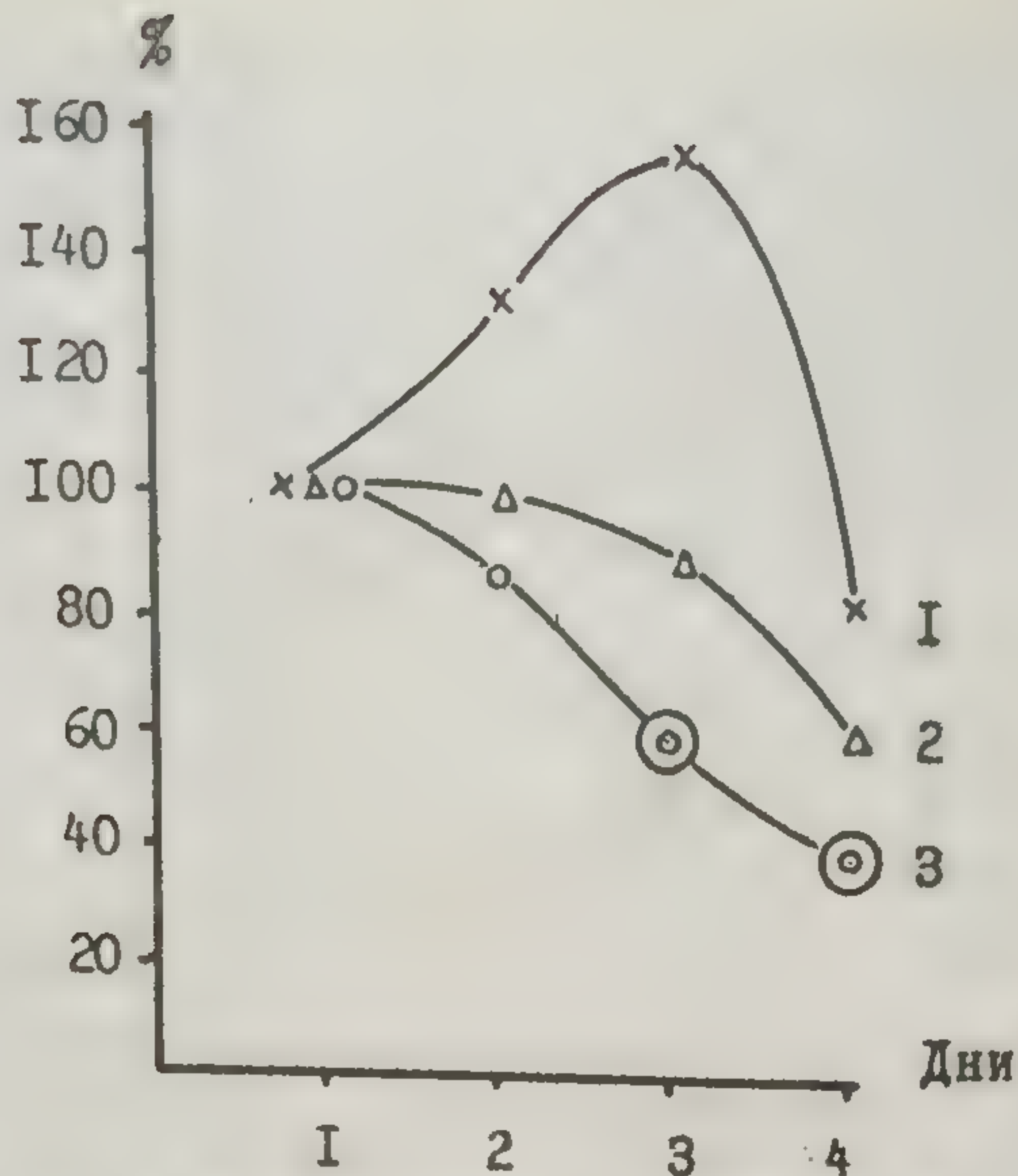


Рис. 28. Число невыполненных реакций при введении АКТГ₄₋₇ сразу после сеансов обучения: Ось абсцисс время обучения (дни); ось ординат — число невыполненных реакций (%). За 100% принято число невыполненных реакций в 1-й день обучения. 1 — контроль; 2 — 0,015 мг/кг АКТГ₄₋₇; 3 — 0,050 мг/кг АКТГ₄₋₇. Кругом отмечены статистически достоверные отличия ($p < 0,01$)

ношении. По нашим данным, наименьшим фрагментом, проявляющим поведенческую активность в условиях выработки навыка на основе пищевого подкрепления, так же как и в опытах с отрицательным подкреплением, является АКТГ₄₋₇, но для проявления у него активности, подобной АКТГ₄₋₁₀, необходима большая доза (Пономарева-Степная и соавт., 1981) (рис. 28).

Аналогично данным, полученным в опытах с отрицательно мотивированным навыком (De Wied, Gispen, 1977), удлинение цепочки приводит к усилению поведенческой активности фрагментов АКТГ и в условиях выработки навыка пищевой поимки к месту подкрепления. "Защита" фрагмента АКТГ₄₋₇ с С-конца пептидными группировками Pro-Gly-Pro, более устойчивыми к действию пептидаз, не только снижает его эффективную дозу, но и приводит к пролонгированию эффек-

Рис. 29. Изменения в числу реакций животных (1) и Pro-Gly-Pro (2); при введении в сроки (3)

та. Синтезированный фрагмент АКТГ проявляет стимулирующее действие за 2 ч до эксперимента. Доказана важность АКТГ как пептида. Замена АКТГ₁₋₁₀ на синтетический фрагмент АКТГ₁₋₁₀ не приводит к изменению поведения животных. Задер...

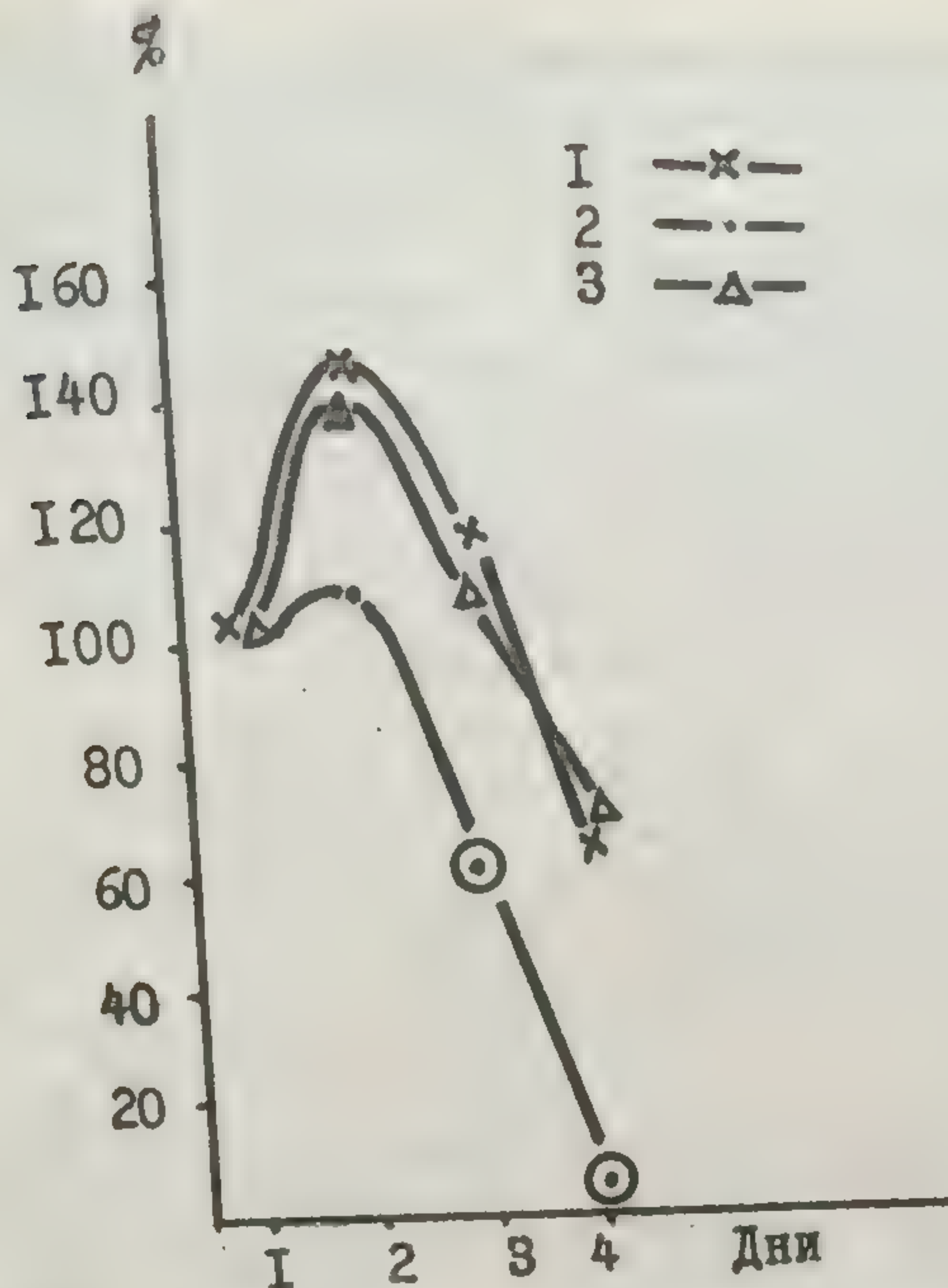


Рис. 29. Изменение числа невыполненных реакций в О к их числу в первый день обучения у контрольных животных (1); при ежедневном введении АКТГ₄₋₇ - Pro-Gly-Pro (0,015 мг/кг) за час до сеансов обучения (2); при введении АКТГ₄₋₁₀ (0,015 мг/кг) в те же сроки (3).

та. Синтезированный в ИМГ АН СССР пептид АКТГ₄₋₇ Pro-Gly-Pro проявляет стимулирующее действие на обучение и при введении его за 2 ч до эксперимента в отличие от АКТГ₄₋₁₀, который эффективен всего в течение получаса (рис. 29).

Доказана важная роль фенилаланина в седьмом положении молекулы АКТГ как центра поведенческой активности АКТГ-подобных пептидов. Замена L-фенилаланина (L-Phe⁷) в этой позиции в молекуле АКТГ₁₋₁₀ на его D-изомер (D-Phe⁷) приводит к реверсии поведенческого эффекта, что проявляется в облегчении угашения навыка избегания болевого раздражителя, в то время как природный аналог его задерживал. То же справедливо и в отношении АКТГ₄₋₇ и АКТГ₄₋₁₀ с замещением L-Phe⁷ на D-Phe⁷. Однако, на пассивное избегание

аналоги АКТГ с D-Phe⁷ действуют таким же образом, как и фрагменты с L-Phe⁷, т.е. облегчают его (De Wied, Gispen, 1977). В тесте с угашением навыка, выработанного на основе вкусового отвращения, пептиды с D- и L-фенилаланином действуют также однонаправленно, задерживая угашение. Предполагается, что замещение L-Phe⁷ на D-Phe⁷ в молекуле АКТГ приводит к появлению нового вида активности (Ашмарин и соавт., 1980). Реверсия поведенческого эффекта является привилегией только аналогов с замещенным D-Phe⁷, все другие D-изомеры обладают таким же эффектом, как и естественные.

При замещении L-Phe⁷ на другие аминокислоты было показано, что поведенческая активность модифицированных аналогов коррелирует со способностью этих аминокислот быть донором электронов. Так замена L-Phe⁷ на лейцин (Leu) в молекуле АКТГ₄₋₉ не ухудшает

поведенческой активности, в то время как модификация с L-триптофаном даже увеличивает поведенческую активность этого пептида. Введение в седьмое положение L-пентаметилфенилаланина еще более усиливает ее (De Wied, Gispen, 1977). Интересно, что наличие метионина в четвертом положении, несущественное само по себе, модулирует поведенческую активность модифицированных аналогов (Rigter et al., 1981). Так, введение D-Met в четвертое положение и D-лизина в восьмое ведет к уменьшению активности АКТГ₄₋₁₀, а

комбинация D-Met⁴ с D-Phe⁷ предотвращает реверсию поведенческого эффекта, вызванную влиянием D-Phe⁷. Количественное изучение взаимосвязи между структурой и поведенческой активностью аналогов АКТГ привело к предположению о существовании активного кольца в пептидной цепи (аминокислоты от 4 до 8 позиции), где возможно значительное усиление потенции. Причем, для проявления эффекта необходима определенная пространственная конфигурация (Kleder, Greven, 1979). Интересно, что α -МСГ также поведенчески активен как и β -МСГ. Оба содержат общее для них звено: His-Phe-Arg-Trp или АКТГ₆₋₉, который сам по себе обладает незначительной

поведенческой активностью. Отсюда предполагается, что существенно необходимый для поведенческого эффекта остаток не ограничен одним локусом или активным центром АКТГ₄₋₇, но может присутствовать и в области АКТГ₇₋₉, где потенция этих центров может быть осуществлена

удлинением цепочки или введением модификации, которая, как полагают, делает молекулу более устойчивой к метаболической деградации. В связи с этим был осуществлен синтез большого числа производных АКТГ с модифицированными или защищенными активными группировками (Kelder, Greven, 1979). Например, гексапептид Met(o)-Glu-His-Phe-D-Lys-Phe, где Met(o) обозначает O-(CH₂)₂-CH(H₂)COOH, по данным этих авторов в 1000 раз эффективнее, чем АКТГ₄₋₇.

Возможность участия эндогенных фрагментов АКТГ в деятельности мозга

До сих пор не решен вопрос, принимает ли участие в центральных эффектах сам гормон или его фрагменты. Предполагается, что процесс эволюции развивался в направлении утилизации метаболитов АКТГ, образующихся при его деградации после выполнения им гормональной функции, аналогично тому, как сам АКТГ и β -ЛПГ происходят, возможно, из одной молекулы — предшественника, а ЛПГ образует ряд пептидов — анальгетиков. Показано, что АКТГ₁₋₃₉ в организме может расщепляться на α -МСГ (ацетилированный АКТГ₁₋₁₃), обладающий поведенческой активностью фрагмент, и поведенчески инертный остаток АКТГ₁₈₋₃₉.

Известно, что АКТГ в организме выделяется в чрезвычайно малых количествах и очень быстро метаболизируется. При введении его в организм, гормон циркулирует в крови 3-5 мин, он быстро захватывается тканями надпочечников и почек и разрушается ферментами. Введение аналогов АКТГ в организм сопровождается также специфическим захватом их различными структурами, особенно сильно проявляющимся в области гипоталамических структур, в таламусе, в области перегородки (Verhoef et al., 1977). Это поддерживает мнение об участии лимбических структур в поведенческом эффекте изучаемых соединений, а также предполагает наличие в мозгу специфических рецепторов к ним. Однако эти рецепторы пока что не обнаружены. Поведенчески эффективные дозы АКТГ и родственных ему пептидов очень малы (1-3 мкг), что позволяет предполагать существование в мозгу ограниченной группы клеток-мишеней к ним (Ашмарин и соавт., 1978). Возможность обнаружения АКТГ-подобных пептидов в мозгу после их периферического введения может свидетельствовать об их проницаемости через гематоэнцефалический барьер. Исследование распределения меченого АКТГ₄₋₇ после внутривенного и подкожного введения показало, что лишь 0,01% вещества оказывается в мозгу. Предполагается, что значительная доля тетрапептида разрушается протеазами на пути к клеткам-мишеням. Показано, что АКТГ₁₋₂₄, α -МСГ и АКТГ₄₋₁₀ в организме и в мозговом экстракте в течение нескольких минут разрушаются с N-конца при интенсивном участии в этом процессе сульфгидрильных пептидаз (Reith et al., 1979). Инкубация меченых аналогов АКТГ₄₋₉ в плазме и в мозговом экстракте показала, что *in vitro* полупериод распада различных аналогов этого пептида коррелирует с их поведенческой активностью (Witter et al., 1975). Маловероятно, чтобы пептиды гипофиза попадали в мозг через систему общего кровотока. Сентаготай (1968) продемонстрировал наличие в мозгу системы микроциркуляции, посредством которой кровь из гипофиза попадает в гипоталамус. Другой возможный способ транспортировки АКТГ-подобных пептидов из гипофиза к другим отделам мозга — через спинномозговую жидкость, т.к. установлено наличие АКТГ в

этой жидкости. Предполагается, что АКТГ-подобные пептиды могут синтезироваться тканью мозга помимо гипофиза. Показано существование эндогенного АКТГ-подобного материала в мозгу крыс, причем, гипофизэктомия не сказывалась на его распределении, что свидетельствует об экстрагипофизарном происхождении пептидов.

Мы изучали возможность выработки антител к фрагменту адренокортикотропного гормона АКТГ₄₋₁₀ и ее влияние на обучение самцов крыс линии "Август" навыку пищевой побежки к месту подкрепления в Т-образном лабиринте. Животные были иммунизированы фрагментом АКТГ₄₋₁₀, конъюгированным с бычьим альбумином - глутаровым альдегидом (БСА-АКТГ₄₋₁₀), а контрольные крысы - бычьим сывороточным альбумином (БСА) - глутаровым альдегидом. Полученные данные свидетельствуют о снижении способности к обучению у животных, иммунизированных БСА-АКТГ₄₋₁₀, по сравнению с контрольными крысами, которым вводился только БСА. Ежедневное внутрибрюшинное введение АКТГ₄₋₁₀ в дозе 0,015 мг/кг сразу после сеанса обучения контрольным животным приводило к ускорению обучения. Введение АКТГ₄₋₁₀ животным, иммунизированным БСА-АКТГ₄₋₁₀, не ускоряло выработки навыка у таких животных, что является косвенным свидетельством наличия у них антител к АКТГ₄₋₁₀, инактивирующих экзогенно вводимый пептид. Таким образом, полученные данные являются новым аргументом за участие эндогенных последовательностей АКТГ₄₋₁₀ в процессе обучения и свидетельствуют об отсутствии иммунотолерантности к эндогенным нейропептидам (Антонова и соавт., 1981).

Роль отдельных структур мозга в эффектах фрагментов АКТГ

Включение АКТГ-подобных пептидов в функции ЦНС подтверждается данными о влиянии их на различные структурные компоненты и образования мозга. Показано снижение частоты спонтанной активности и появление ритмической импульсации гигантского дофаминэргического нейрона улитки под действием АКТГ (Lichtensteiger, Felix, 1979). АКТГ₄₋₁₀ увеличивает амплитуду ТПСР, вызванного приложением дофамина, в синапсе симпатического паравентрального ганглия лягушки (Wouters et al., 1979). Было показано, что при введении малых доз фрагментов АКТГ наблюдается изменение в электрической активности мозга человека (Медведев и соавт., 1979). У свободно движущихся крыс и собак АКТГ и его фрагменты изменяют активность среднемозговых лимбических структур (Urban, De Wied, 1978). У крыс АКТГ₄₋₁₀ вызывает изменения в частоте тета-ритма в гиппокампе и таламусе (от 7,0 до 7,5 Гц), вызванного стимуляцией ретикулярной формации. Так как подобные изменения вызы-

... результат ...
... в среднем ...
... свидетел ...
... механиз ...
... эффекта АКТ ...
... ответа (В ...
... компонент ...
... приложения ...
... животных с ...
... фрагментов ...
... ядра ...
... камере ...
... процесса у ...
... как это набли ...
... Gispren, 1977) ...
... предотвр ...
... АКТГ₁₋₁₀ ...
... введении, в ...
... раздражител ...
... мезенцефально-диз ...
... пептидов в ве ...
... и ростральные ...
... парафасцикуля ...
... для проявле ...
... Возможно, что ...
... для подд ...
... ов.

Нейрохими

Связь с аде ...
... точке зрени ...
... рецепторами ...
... клетки, чт ...
... и, таким с ...
... в основе ф ...
... что АКТГ-по ...
... мембра ...
... пока не п ...
... введения ...
... фосфодиэстеразы ...
... превращение цАМ ...
... роли ...
... АКТГ на ...
... (Wielgant, Gi ...

ваются увеличением интенсивности стимула, эти данные интерпретировались как результат облегчающего влияния АКТГ₄₋₁₀ на передачу возбуждения в срединномозговых структурах. С этим согласуются и другие данные, свидетельствующие о вовлечении фрагментов АКТГ в центральные механизмы регулирования активации мозга. Показано отсутствие эффекта АКТГ₄₋₁₀ на латенцию и амплитуду первичного вызванного ответа (ВП) на зрительный стимул, в то время как амплитуда поздних компонентов ВП была значительно уменьшена.

Место приложения действия АКТГ и его фрагментов в мозгу изучали на животных с разрушением различных мозговых образований и введением фрагментов АКТГ в мозг. Билатеральное разрушение парафасцикулярного ядра таламуса облегчало угашение реакции избегания в челночной камере. Крысы с таким разрушением не обнаруживали задержки процесса угашения навыка при введении им фрагментов АКТГ, как это наблюдалось у ложно оперированных животных (De Wied, Gispen, 1977). Билатеральное разрушение антеродорсального гиппокампа предотвращало поведенческий эффект АКТГ₄₋₁₀. Микроинъекция АКТГ₁₋₁₀ или АКТГ₄₋₁₀ в дозах, неэффективных при системном введении, вызывала торможение процесса угашения избегания болевого раздражителя у крыс при локальном подведении пептидов к мезенцефально-диэнцефальной области заднего таламуса. Введение этих пептидов в вентральный или передний таламус, и в более каудальные и ростральные области мозга было неэффективным. Таким образом, парафасцикулярная область и антеродорсальный гиппокамп необходимы для проявления поведенческого эффекта АКТГ и его фрагментов. Возможно, что связи лимбической системы среднего мозга необходимы для поддержания поведенческих эффектов этих нейропептидов.

Нейрохимические аспекты действия фрагментов АКТГ

Связь с аденилатциклазной системой. Согласно общепринятой точке зрения, АКТГ и другие белковые гормоны взаимодействуют с рецепторами на поверхности плазматической мембраны эффекторной клетки, что приводит к увеличению продукции внутриклеточной цАМФ, и, таким образом, запускается цепь биохимических реакций, лежащих в основе функционального ответа эффекторной клетки. Считается, что АКТГ-подобные пептиды взаимодействуют с рецепторами клеточной мембраны в ЦНС по аналогичному механизму, хотя точные данные пока не получены. Показано, что поведенческий эффект внутричерепного введения АКТГ может усиливаться теofilлиновой блокадой фосфодиэстеразы мозга, фермента, который *in vivo* катализирует превращение цАМФ в АМФ. Это согласуется с предположением о медиаторной роли цАМФ во взаимодействии АКТГ с клетками ЦНС. Влияние АКТГ на активность аденилатциклазы было изучено *in vitro* (Wielgant, Gispen, 1975). Определялась аккумуляция цАМФ в срезах

мозга, полученных из заднего гипоталамуса крысы, включающего парасасцикулярное ядро, которое играет важную роль в проявлении поведенческой активности N-концевых АКТГ-фрагментов. Результаты позволили сделать вывод, что АКТГ-подобные пептиды могут действовать на мозговой метаболизм через повышение уровня внутриклеточной цАМФ. При изучении влияния интравентрикулярного введения АКТГ₁₋₂₄ на уровень цАМФ в различных районах мозга крысы показано было, что наибольшее увеличение уровня цАМФ обнаруживается в промежуточном и среднем мозгу (Gispen et al., 1977).

В серии экспериментов (Yakoubek et al., 1972) обнаружен эффект экзогенного АКТГ на метаболизм мозговой РНК в мозгу крысы. Введение АКТГ₁₋₂₄ интактным крысам привело к временному ингибированию включения ¹⁴C-уридина в РНК мозга, а также к снижению степени включения метки в РНК ствола мозга, что сопровождалось уменьшением содержания РНК в мозговом стволе через 2,5 ч после инъекции. У адреналэктомированных крыс аналогичное введение стимулировало включение ¹⁴C-уридина в РНК мозгового ствола, однако в данном случае не было замечено увеличения содержания РНК этого отдела мозга. АКТГ₁₋₁₀ был неэффективен при введении как интактным, так и адреналэктомированным крысам. Не выявлено влияния АКТГ₄₋₁₀ на синтез и содержание РНК у мышей. Предполагается, что различия в активности АКТГ₁₋₂₄ у интактных и адреналэктомированных крыс могут быть объяснены кортикотропным эффектом этого пептида. У интактных крыс стероиды надпочечников, продуцируемые под влиянием АКТГ₁₋₂₄, могут ингибировать стимуляторный эффект АКТГ на включение уридина. Отсутствие действия АКТГ₁₋₁₀ на включение уридина в РНК ствола мозга можно объяснить предположением о том, что транспорт АКТГ₁₋₁₀ к пептид-специфическому участку в ЦНС отличается от такового у АКТГ₁₋₂₄ или, что специфический участок отличается для двух фрагментов. Данные о влиянии фрагментов АКТГ на содержание и синтез мозговой РНК наводят на мысль, что короткий N-терминальный отрезок АКТГ (4-10 и 1-10) не действует на мозговой макромолекулярный метаболизм на уровне транскрипции (Gispen et al., 1977).

Оценено также влияние фрагментов АКТГ на синтез и содержание белков в тканях мозга. Показано, что введение гипофизэктомированным крысам в течение 12 дней АКТГ₁₋₁₀ увеличивает включение ³H-лейцина в суммарную белковую фракцию ствола мозга на 28% (Shotman et al., 1972). После гипофизэктомии наблюдается уменьшение степени включения метки на 35%, а однократное введение АКТГ₁₋₁₀ почти полностью восстанавливает содержание белка до уровня, найденного у интактных крыс. При изучении влияния пептидов на включение меченого лейцина в белок ствола мозга *in vitro* (Gispen et al., 1977) выявлено, что АКТГ₁₋₁₀ в концентрации 10⁻⁵М и 5·10⁻⁷М значительно увеличивают включения ¹⁴C-лейцина в белок

заднего таламуса крысы (на 39% и 34%, соответственно). Сходные данные получены от АКТГ₄₋₁₀. Показано также, что хроническое

введение АКТГ₄₋₁₀ интактным мышам стимулирует включение меченых аминокислот в белок мозга. При однократной инъекции АКТГ₁₋₁₀

и АКТГ₁₋₂₄ — поведенчески активных фрагментов гормона — отмечено

увеличение включения ³H-лизина в белок мозга мышей на 10–28%.

Поведенчески неактивные фрагменты АКТГ оказались неэффективными по отношению к включению ¹⁴C-лизина в белок мозга, как *in vivo*,

так и *in vitro*. Таким образом, способность аналогов АКТГ влиять на поведенческие реакции может быть связана с их воздействием на

синтез белков ствола мозга, что приводит к изменению других биохимических процессов в мозгу и может лежать в основе поведенческих

эффектов фрагментов АКТГ.

Влияние на обмен макромолекул. В последние годы было обнаружено, что АКТГ₁₋₂₄ и АКТГ₄₋₁₀ способны *in vitro* влиять

на фосфорилирование белков мембраны в мозгу крысы (Ziers et al., 1976). Считается, что фосфорилирование белков увеличивает ионную

проницаемость мембраны. Можно предположить, что в основе влияния АКТГ-фрагментов на нервную передачу лежит изменение ионной

проницаемости нейрональных мембран. Возможно, этот эффект осуществляется и за счет увеличения белкового синтеза (ускорение возоб-

новления белков синаптической мембраны). Гипотетическая схема взаимодействия АКТГ-подобных пептидов с нервной клеткой (Gispen

et al., 1977) представлена на рис. 30. Предполагается, что пептиды взаимодействуют в ЦНС со специфическими рецепторами. Соеди-

нение АКТГ с рецептором стимулирует аденилатциклазу. Последующие изменения во внутриклеточной концентрации цАМФ индуцируют

изменения активности цАМФ-зависимой протеинкиназы. Это приводит к изменениям в мембранном фосфорилировании и макромолекулярном

метаболизме, которые могут быть основой влияния пептидов на нервную передачу и, в конечном итоге, на поведение.

Взаимодействие с нейромедиаторными системами. Поведенческие эффекты АКТГ и его фрагментов могут быть результатом их взаимодействия с нейромедиаторными системами. Введение АКТГ

интактным крысам ускоряет обмен норадреналина в гипоталамусе, коре и других областях мозга. После адреналэктомии наблюдалось

увеличение, а после гипофизэктомии — уменьшение содержания норадреналина в мозгу. Мы изучили действие АКТГ₄₋₁₀ и его аналога

Met-Glu-His-DPhe-Lys-Phe на выработку у крыс пищедобыва-

тельного условного рефлекса в Т-образном лабиринте на фоне действия амизила, блокатора М-холинорецепторов, и резерпина, истоща-

щего депо моноаминов. Стимулирующий обучение пищевому навыку эффект АКТГ₄₋₁₀ проявляется в условиях блокады М-холинорецепторов,

но отсутствует на фоне снижения уровня биогенных аминов в мозгу. Ухудшение обучения под действием D-Phe⁷-аналога, вероятно, не за-

висит от уровня биогенных аминов, но не проявляется в условиях бло-



Рис.30. Возможный механизм действия фрагментов АКТГ на механизмы обучения и памяти. Пептид, выделяемый пептидергическим нейроном, может взаимодействовать с рецептором пресинаптического нейрона (1), увеличивая активность аденилатциклазы (АЦ) и, тем самым усиливая синтез цАМФ и АТФ, что в свою очередь, приводит к интенсификации синтеза норадреналина (НА) из тирозина (Тир). Альтернативно (или одновременно) пептид может взаимодействовать с рецептором постсинаптического нейрона (2), изменяя свойства его мембраны и, возможно, усиливая синтез цАМФ в нем

кады М-холинорецепторов амизилом (Антонова и соавт., 1982). Видимо, поведенческий эффект АКТГ₄₋₁₀ сопряжен с системой биогенных аминов. Действие аналога, содержащего D-изомер фенилаланина в седьмом положении молекулы АКТГ, видимо, имеет другой механизм, связанный с холинэргической системой.

Практическое применение фрагментов АКТГ. Более 10 лет тому назад было начато клиническое испытание фрагментов АКТГ₁₋₂₄ и АКТГ₁₋₁₀ (Endrőczy et al., 1970) на добровольцах и пациентах, страдающих психическими расстройствами. Отмечено усиление внимания, замедление угасания изменений в ЭЭГ в ответ на повторяющиеся звуковые и световые стимулы. Однако в ряде случаев наблюдалось усиление проявлений депрессии под действием АКТГ₄₋₁₀.

В целом ряде тестов показано, что фрагменты АКТГ улучшали выполнение экспериментальных задач, увеличивая как целенаправленность мотивации, так и скорость реакции (Gaillard et al., 1979). Отмечено улучшение визуальной памяти и успокоение испытуемых. Однако, в тесте на выработку условнорефлекторного избегания болевого раздражения у людей, введение АКТГ₄₋₁₀ оказалось неэффективным. Кро-

ме того, АКТГ и АКТГ₄₋₁₀ улучшают нервно-мышечную передачу у больных миастенией и мышечной атрофией, увеличивая амплитуду потенциала действия, силу сокращения и задерживая наступление утомления. АКТГ₄₋₁₀ с D-Phe⁷ был в этом случае неэффективен. АКТГ ускоряет восстановление нервно-мышечной передачи, нарушенной повреждением периферического нерва. По-видимому, в ближайшем будущем на основе фрагментов АКТГ или их аналогов будут созданы средства, повышающие работоспособность, а также лекарственные формы для лечения ряда расстройств нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА

- Аляутдин Р.Н., Каспаров С.А. и соавт. Фармакол. и токсикол., 1981, 4, 406-410.
- Антонова Л.В., Бурбаева Г.Ш. и соавт. - ДАН СССР, 1981, 6, 1477-1480.
- Ашмарин И.П. - "Загадки и откровения биохимии памяти", Изд. ЛГУ, 1975.
- Ашмарин И.П. - Ж. эволюц. биохим. физиол., 1977, 5, 570-578.
- Ашмарин И.П., Еропкин М.Ю., Малюкова И.В. - Ж. эволюц. биохим. физиол., 1976, 6, 509.
- Ашмарин И.П., Еропкин М.Ю. и соавт. - Молекул. биол. 1978, 5, 965.
- Ашмарин И.П., Антонова Л.В. и соавт. - Ж. высш. нерв. деят-сти, 1980, 6, 1196-1203.
- Бородкин Ю.С., Зайцев Ю.В. - "Нейрохимические и функциональные основы долговременной памяти". Л. Медицина, 1982.
- Вальдман А.В. - В кн. "Экспериментальная нейрофизиология эмоций". Л. Наука, 1972, 108-123.
- Вальдман А.В. - Вестн. АМН СССР, 1980, 9.
- Вальдман А.В. (Valdman A.V.) Уп.: "Advances in pharmacology and the-
rapeutics II", 1982, 1, 165-173
- Вальдман А.В., Бондаренко Н.А., Камышева В.А. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1982, 4, 57-59.
- Вальдман А.В., Звартау Э.Э., Козловская М.М. - Психофармакология эмоций. М. Медицина, 1976.
- Вальдман А.В., Звартау Э.Э. Ж. невропатол. психиатр. 1980, 80, 1020-1024.
- Вальдман А.В., Игнатов Ю.Д. - "Центральные механизмы боли", Л., Наука, 1976.
- Вальдман А.В., Козловская М.М. - В кн.: "Нейрофизиологический под-
ход к анализу внутривидового поведения". М., Наука, 1976, 74-110.
- Вальдман А.В., Козловская М.М., Ашмарин И.П. и соавт., - Бюлл. эксп. биол. и мед., 1981, 7, 31-33.
- Вальдман А.В., Козловская М.М. и соавт. - Бюлл. exper. биол. и мед., 1980, 6, 693-696.
- Вальдман А.В., Козловская М.М., Медведев О.С. - "Фармакологическая регуляция эмоционального стресса". М., Медицина, 1979.
- Вальдман А.В., Медведев О.С., Титов М.И. - Тез. докл. симпозиума "Вазоактивные пептиды", 14-15 мая 1980 г., София, 13-14.
- Васильев Ю.Н., Игнатов Ю.Д., Качан А.Т., Богданов Н.Н. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1979, 11, 566-569.
- Васильев Ю.Н., Дмитриев А.В., Игнатов Ю.Д. - В кн.: "Нейрофармакологические аспекты эмоционального стресса и лекарственной зави-
симости". Л., 1978, 27-37.
- Графова В.Н., Данилова Е.И., Кривжановский Г.Н. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1979, 8, 147-151.
- Дуринян А.Р. - В кн.: "Теория и практика рефлексотерапий". Сара-
тов, 1981.
- Зайцев А.А., Дмитриев А.В., Игнатов Ю.Д. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1982, 4, 52-54.

- Закусов В.В., Островская Р.У., Булаев В.М., - Вестник АМН СССР, 1982, 5, 54-64.
- Звартау Э.Э. - В кн.: "Нейрофармакология процессов центрального регулирования. Л., 1969, 199-244.
- Звартау Э.Э. - В кн.: "Нейрофармакологические аспекты эмоционального стресса и лекарственной зависимости". Л., 1978, 143-158.
- Звартау Э.Э. - Фармакол. токсикол., 1978, 3, 270-274.
- Звартау Э.Э. Бюлл. эксп. биол. мед., 1979, 11, 569-572.
- Зиле Р.К., Одынец Т.Г., Клуша В.Е. - Биохимия, 1979, 1, 93-96.
- Игнатов Ю.Д., Васильев Ю.Н. и соавт. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1981, 7, 53-55.
- Игнатов Ю.Д., Коваленко В.С. и соавт. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1981, 7, 33-35.
- Калужный Л.В., Голанов Е.В. - Успехи физиол. наук, 1980, 3, 85-115.
- Каменский А.А., Антонова Л.В., Левишкая Н.Г. - Физиол. журн. СССР, 1980, 10, 1549-1553.
- Каменский А.А., Титов С.А., Антонова Л.В., Ашмарин И.П. - Ж.высш. нервн. деят.-сти, 1980, 6, 1196.
- Кампов-Полевой А.Б. - Бюлл. эксп. биол. мед. 1978, 9, 306-308.
- Каспаров С.А. - Фармакол. и токсикол., 1982, 2, 30-35.
- Кастлер Г. - В кн.: "Возникновение биологической организации". М., Мир, 1967, 37-60.
- Клуша В.Е. - Хим.-фарм. журн., 1978, 3, 3-15.
- Клуша В.Е., Свирскис Ш.В., Зиле Р.К. - Изв. АН Латв.ССР, 1978, 18, 100-113.
- Клуша В.Е., Свирскис Ш.В. и соавт. - Хим.фарм. журн. 1979, 7, 24-31.
- Клуша В.Е., Свирскис Ш.В. и соавт. - Хим.-фарм. журн., 1979, 7, 260-267.
- Козловская М.М. - В кн.: "Структурная, функциональная и нейрохимическая организация эмоций". Л., Изд-во I ЛМИ, 1971, 99.
- Козловская М.М., Вальдман А.В. - в кн.: "Экспериментальная нейрофизиология эмоций". - Наука, Л., 1972, 173-210.
- Козловская М.М., Клуша В.Е., Бондаренко Н.А. - в кн.: "Нейрохимические основы психотропного эффекта", под ред. А.В.Вальдмана, М., 1982, 95-105.
- Козловская М.М., Каткова Е.Б. - В кн.: "Психофармакология эмоционального стресса и зоосоциального взаимодействия". Л. изд. I ЛМИ, 1975, 108-117.
- Кравков Н.П. - "Основы фармакологии", 1927, ч.1., 1-387.
- Кругликов Р.И., Гольдберг М.Б. и соавт. - Изв. АН СССР, сер. биол., 1980, 5, 778-781.
- Кругликов Р.И. - "Нейрохимические механизмы обучения и памяти". М., Наука, 1981, 211.
- Майский А.И., Клуша В.Е., Ведерникова Н.Н. - Бюлл. эксп. биол. мед., 1981, 4, 456-458.
- Медведев В.И., Бахарев В.Д., Миролюбов А.В. - Физиол. журн. СССР, 1979, № 13, 477-480.

- Медведев О.С., Вальдман А.В., Титов М.И. — Бюлл. эксп. биол. мед., 1981, 5, 574-576
- Медведев О.С., Вылегжанин А.Г. и соавт. — Физиол. журн. СССР, 1981, 11, 1676-1682.
- Меерсон Ф.З., Кругликов Р.И., Соломатина Е.С. — Ж. высш. нерв. деят-сти, 1976, 1026-1031
- Мышлякова Н.В., Клуша В.Е., Чипенс Г.И. — Хим.-фарм. журн., 1981, 1, 10-20.
- Пономарева-Степная М.А., Алфеева Л.Ю. и соавт. — Хим.-фарм. журн., 1981, 10, 37-42.
- Пошивалов В.П. — В кн.: "Нейрофармакологическая регуляция системных процессов". Л., Изд-во Л. ЛМИ, 1974, 60-83.
- Пошивалов В.П. — Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. Л.-М., 1978, Деп. ВИНТИ, № 3164 — 78 деп., 43.
- Пошивалов В.П., (Poshivalov V.P.) — Pharm. Biochem. Behav., 1981, 1, 53-59.
- Пошивалов В.П. — В кн.: "Нейрохимические основы психотропного эффекта". М., 1982, 106-117.
- Рылов А.Л. — Фармакол. и токсикол., 1981, 5, 539-543.
- Судаков К.В. — Вестн. АМН СССР, 1980, 9, 17-22.
- Фисенко В.П., Чиченков О.Н., Аляутдин Р.Н. — Бюлл. эксп. биол. мед., 1979, № 6, 556-558.
- Харкевич Д.А., Титов М.И. — Вестник АМН СССР, 1982, № 5, 54-64.
- Чипенс Г.И., Полевая Л.К. и соавт. — "Структура и функции низкомолекулярных пептидов". Рига, "Зинатне", 1980, 327.
- Эндорфины (под ред. Э.Коста, М.Трабукки). М. Мир, 1981, 368.
- Allen C., Allen B., Rake A. — Psychopharmacologia, 1974, 34, 1-10.
- Aloisi F., Scotti de Carolis A., Longo V. — Pharmacol. Res. Comm., 1980, 12, 467-477.
- Anhut, H., Knepel W. et al. — Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1981, 316, 59-63.
- Arnsten A., Segal D., Loughlin S. et al. — Brain Res., 1981, 222, 351-363.
- Atwen S., Kuhar M. — Brain Res., 1977, 129, 1-12.
- Barchas J., Akil H., Elliot G. et al. — Science, 1978, 200, 964-973.
- Barden N., Labrie F. — J. Biol. Chem., 1973, 248, 7601-7606.
- Barker J. — In: "Peptides in neurobiology". Ed. H. Gainer, Plenum N.Y., 1977, 295-343.
- Barnett R., Palazzotto Y. — N.Y. Acad. Sci., 1975, 242, 69-76.
- Beauvillain I.C., Tramu G., Dubois M.P. — Cell. a. Tiss. Res. — 1981, 218, 1.
- Bellet M., Elghozi J., Meyer P. — Arch. Int. Pharmacodyn., 1981, 252, 147-151.
- Berridge M. — TIPS, 1980, 419-424.
- Bhargava H. — Neuropharmacology, 1981, 20, 699-702.
- Bloom F. — In: "Psychopharmacology: a generation of progress". Ed. M. Lipton, Raven Press, N.Y., 1978, 131-141.
- Bloom F., Battenberg E. et al. — Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1978, 75, 1591-1595.

Fuxe K.,
 D. — Anaes
 Evans A.
 J.D., Hono
 54.
 P., de Wied
 "Ed.
 seoses."
 villo O., Henry
 1979, 57, 652-6
 L., Flori
 mic Press, 196
 M., Taleis
 1428-1433.
 Palay V.,
 75, 1582-1586
 Chin S., Mishra

Cott J., Engel
 Cox B., Kastin
 141-147.
 Curtis M., Lef
 Davies G., Dra
 Deakin J., Do
 De Feudis F.
 Descarries L.
 Descarries L.
 De Wied D.,
 De Wied, D.
 373-389.
 De Wied D.,
 Plenum N
 Dickenson A
 Dickenson
 Dismukes F
 Dockray G
 Douarin N.
 Duggan A.
 Dupont A.
 Eide R.,
 des", E
 Emmers F
 Endröcz
 Ervin G.
 35

- Bolme P., Fuxe K., Agnati L.F. et al. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1978, 48, 319-324.
- Bowsher D. — *Anaesthesia*, 1978, 33, 935-944.
- Brain P., Evans A. — *Pharmac. Biochem. Behav.*, 1977, 7, 425-433.
- Bristow J.D., Honour A.J., Pickering G.W. et al. — *Circulation*, 1969, 39, 48-54.
- Burbach P., de Wied D. — In: "Enzymes and neurotransmitters in mental diseases." Ed. E. Ursin et al., J. Wiley, 1980, 103-115.
- Calvillo O., Henry J.L., Neuman R.S. — *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1979, 57, 652-663.
- Carruyo L., Florio V. et al. — In: "Pain", eds. A. Soulaire et al., Academic Press, 1968, 425-439.
- Celis M., Taleisnik S., Walter R. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1971, 68, 1428-1433.
- Chan-Palay V., Jonsson G., Palay S. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, 75, 1582-1586.
- Chin S., Mishra R. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1979, 53, 119-125.
- Cott J., Engel J. — *Psychopharmacology*, 1977, 52, 145-149.
- Cox B., Kastin A., Schmieden H. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1976, 36, 141-147.
- Curtis M., Lefer A. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1982, 78, 307-313.
- Davies G., Dray A. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1978, 63, 87-96.
- Deakin J., Doströfsky J., Smyth D. — *Biochem. J.*, 1980, 189, 501-506.
- De Feudis F. — *Pharmacol. Res. Commun.*, 1982, 14, 383-390.
- Descarries L., Beadet A., Watkins K. — *Brain Res.*, 1975, 100, 536-588.
- Descarries L., Watkins K., Lapierre Y. — *Brain Res.*, 1977, 133, 197-222.
- De Wied D., Bohus B. — *Nature*, 1966, 212, 1484-1486.
- De Wied D. — In: "Memory and information". N.Y., Acad. Press, 1973, 373-389.
- De Wied D., Gispen W. — In: "Peptides in neurobiology". Ed. H. Gainer, Plenum N.Y., 1977, 397-448.
- Dickenson A., Fardin V. et al. — *Neurosci. Lett.*, 1979, 3, 265-270.
- Dickenson A., Le Bars D. — *Neurosci. Lett.*, 1981, 24, 161-164.
- Dismukes R. — *Behav. a Brain Sci.*, 1979, 2, 409-448.
- Dockray G. — *Nature*, 1976, 264, 568-570.
- Douarin N. — In: "Gut hormones". Ed. S. Bloom, Edinburgh, 1978, 49-56.
- Duggan A., Jonson S., Morton C. — *Brain Res.*, 1981, 229, 379-387.
- Dupont A., Kastin A., Labrie F. et al. — *J. Endocr.*, 1975, 64, 237-241.
- Eide R., Hökfelt T., Johansson O. et al. — In: "Centrally Acting Peptides", Ed. J. Hughes, London: MacMillan, 1978, 17.
- Emmers R. — *Exp. Neurol.*, 1979, 65, 186-201.
- Endröczy E., Lissak K. et al. — *Progr. Brain Res.*, 1970, 32.
- Ervin G., Schmitz S., Nemeroff C. et al. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1981, 72, 35-43.
- Erspamer V., Melchiorri P. — *TIPS*, 1980, 391-395.
- Farsang C., Ramirez-Gonzalez M., Mucci L., Kunos G. — *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 1980, 214, 203-208.

- Fekete M., Kadar T., Telegdy G. — *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, 1981, 57, 117-183.
- Fekete M., Bokor M., Penke B. e.a. — *Neurochem. Int.*, 1981, 3, 165-169.
- Feldberg W., Wei E. — *J. Physiol.*, 1978, 280, 18P.
- File S.E., Clarke A. — *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1980, 12, 711-715.
- Fitzgerald M., Woolf C. — *J. Physiol. (Lond.)*, 1980, 305, 98P.
- Florez J., Mediavilla A., Pazos A. — *Brain Res.*, 1980, 199, 197-206.
- Freedman R., Hoffer B., Woodward D., Puro D. — *Expt. Neurol.*, 1977, 55, 269-288.
- Freye E., Arndt J.O. — *Naunin-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1979, 307, 123-128.
- Friedman E., Friedman J., Gershon S. — *Science*, 1974, 182, 831-832.
- Gaillard A., Varey C. — *Physiol. and Behav.*, 1979, 23, 79-84.
- Gamse R., Holzer P., Lembeck F. — *Naunin-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1979, 308, 281-285.
- Garcia-Sevilla J. — *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1980, 310, 211-218.
- Garzon J., Rubio J., del Rio J. — *Life Sciences*, 1981, 29, 17-25.
- Gibbs M., Nd K., Richadale A. — *Neurosci. Lett.*, 1977, 6, 355.
- Gilson A., Hart S., Shabib A. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1980, 70, 509.
- Gillis R., Helke C., Hamilton B. e.a. — *Brain Res.*, 1980, 181, 476-481.
- Gintzler A., Scalisi J. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1982, 75, 199-205.
- Gispen W., Reith M. et al. — In: "Neuropeptide Influences of the Brain and Behavior." N.Y. Raven Press, 1977, 61-81.
- Golembiowska-Nikitin K., Pilc A., Vetulani J. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1980, 32, 70-71.
- Golstein A., Tachibana S. et al. — *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1979, 76, 6666-6670.
- Goodman R., Snyder S. et al. — *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 1980, 77, 6239-6243.
- Green A., Graham-Smith D. — *Nature(L)*, 1974, 251, 524-526.
- Griffiths E., Kelly J. et al. — In: "Brain peptides: a new endocrinology". Eds A.M. Gotto e.a. Biomedical Press, 1978, p. 197-209.
- Groot J.: *Verh. Linkl. Ned. Acad. Wetensch.*, 1959, 52, 1-40.
- Guillemin R. — In: *The hypothalamus*. Ed. S. Reichlin e.a., Raven Press, N.Y. 1978, 155-194.
- Haley T., McCormick W. — *Brit. J. Pharmacol.*, 1957, 12, 12-15.
- Hansson G., Alphas L., Pradhan S. — *Neuropharmacology*, 1981, 20, 541-548.
- Hayes B., Yacquinin C. — *FEBS Lett.*, 1971, 18, 47-52.
- Heal D., Green A. — *Neuropharmacol.*, 1979, 18, 23-31.
- Henry J.L. — *Neurosci.*, 1979, 4, 1485-1491.
- Herman B.H., Panksepp J. — *Science*, 1981, 211, 1060-1062.
- Hiller J., Simon E. et al. — *Brain Res.*, 1978, 145, 386-400.
- Hirata F., Strittmatter W., Axelrod Y. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, 76, 368-372.
- Hökfelt T., Lundberg Y., Schutzberg M. et al. — In: "Neural peptides and neuronal communication". Ed. E. Costa, M. Trabucchi, Raven Press, 1980.

T., Elde R., Fuxe
et al., Raven Press
J., Faden A. —
D., Haigler H. —
A., Spirt N. — *Life*
Toro Y., Scott
1975, 3, 235-
H. — *Totus homo*
R., Correa F., Uhl
1-525.
K., Samodelov L.
1980, 312, 5
L., Lee C., Gi
1-111.
Quirido I., Graudenz
Quirido J., Perry M.
Learning and memor
Scoubek B., Buresov
essell T. — *Brain*
essell T., Iversen L.
damandas K., Phill
ones J., Floras J.
Jorna J., Heinz G. —
Salivas P., Horita
Lastin A., Olson R.
Kelder J., Greven
Kelly A., Iversen S.
Kelly P., Lane A.
153-154.
Kerr F., Wilson P.
Kervin R., Pycock
Kilcoyne M., Hoff
57S.
Kitahata L., Coll
Kloet R., de Wier
tini, W. Ganon
Koida M., Nagao
Konishi S., Tsun
Kosterlitz H. I.
Marsan and W.
Kosterlitz H.W.
Kosterlitz H.W.
73, 939-949.
Kovács G., Bol
Kovács G., Bol
53, 123-140
Kovács G., T.
F.I.

- Hökfelt T., Elde R., Fuxe K. et al. — In: "The Hypothalamus", Eds Reichlin et al., Raven Press, N.Y., 1978, 69-135.
- Holaday J., Faden A. — Brain Res., 1980.
- Hosford D., Haigler H. — J. Pharmacol. Exp. Ther., 1980, 213, 355-363.
- Horst W., Spirt N. — Life Sci., 1974, 15, 1073-1082.
- Huidobro-Toro Y., Scotti de Carolis A., Longo V. — Pharmac., Biochem., Behav., 1975, 3, 235-242.
- Hyden H. — Totus homo, 1978, 8, 105.
- Innis R., Correa F., Uhl G. et al. — Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 1979, 76, 521-525.
- Inoue K., Samodelov L., Arndt J. — Naunin-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1980, 312, 57-61.
- Iversen L., Lee C., Gilbert R. et al. — Proc. Roy. Soc. B(L), 1980, 210, 91-111.
- Izquierdo I., Graudenz M. — Psychopharmacology, 1980, 67, 265-268.
- Izquierdo J., Perry M., Renato D. et al. — In: "Endogenous peptides and learning and memory processes", N.Y.: Academic Press, 1981, 269-290.
- Jacoubek B., Buresova M. et al. — Brain Res., 1972, 43, 417-428.
- Jessell T. — Brain Res., 1978, 151, 469-478.
- Jessel T., Iversen L. — Nature, 1977, 268, 549-551.
- Jhamandas K., Phillis J., Pinsky C. — Brit. J. Pharmacol., 1971, 43, 53-66.
- Jones J., Floras J. — Clinical Sci., 1980, 59, 347-352.
- Jurna J., Heinz G. — Brain Res., 1979, 171, 573-576.
- Kalivas P., Horita A. — J. Pharm. Exp. Therap., 1980, 212, 203-210.
- Kastin A., Olson R. et al. — Life Sciences, 1979, 25, 401-414.
- Kelder J., Greven H., Ragal G. — Netherl. Chem. Ser. 1979, 98, 168-172.
- Kelly A., Iversen S. — Eur. J. Pharmacol., 1979, 60, 171-179.
- Kelly P., Lane A., Rance M., Traynor J. — Brit. J. Pharmacol., 1980, 70, 153-154.
- Kerr F., Wilson P., Nijensohn D. — Exp. Neurol., 1978, 61, 84-88.
- Kervin R., Pycock C. — Br. J. Pharmacol., 1979, 67, 323.
- Kilcoyne M., Hoffman D., Zimmerman E. — Clinical Sci. 1980, 59, suppl. 6, 57S.
- Kitahata L., Collins J. — Anesthesiol., 1981, 54, 153-163.
- Kloet R., de Wied D. — In: "Frontiers in neuroendocrinology", Ed. L. Martini, W. Ganong, Raven Press, N.Y., 1980, 157-201.
- Koida M., Nagaoka J. et al. — J. Pharmacodynamics, 1980, 3, 6, 11.
- Konishi S., Tsunoo A., Otsuka M. — Nature, 1981, 294, 80-82.
- Kosterlitz H. In: "Neuropeptides and Neural transmission", Ed. C. Ajmone-Marsan and W. Traczyk., Raven Press, N.Y., 1980, 191-197.
- Kosterlitz H.W. — Arch. Pharmac. Exp. Path., 1979, 308, Suppl. 4.
- Kosterlitz H.W., Paterson S.J., Robson L.E. — Brit. J. Pharmacol., 1981, 73, 939-949.
- Kovács G., Bohus B., Versteeg D. et al. — Brain Res., 1979, 175, 303-314.
- Kovács G., Bohus B., Versteeg D. — In: "Progress in Brain Res.", 1980, 53, 123-140.
- Kovács G., Telegdy G. — Neuropeptides, 1981, 1, 371-375.
- Kovács G.L., Večsei L., Medve L., Telegdy G. — Exp. Brain Res., 1980, 38, 357-361.

- Kunos G., Farsang C., Ramirez-Gonzalez M. — *Science*, 1981, 24, 82-84.
- Kuraishi Y., Satoh M., Harada Y. et al. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1980, 67, 143-146.
- Lajtha A., Dunlop D. — *Life Sci.*, 1981, 29, 755-767.
- Larsson L., Childers S., Snyder S. — *Nature*, 1979, 282, 407-410.
- Laubie M. — In: "Recent advances in hypertension". Eds. P. Miller, M. Saffar. Lab. Boehringer Ingelheim, 1975, 49-59.
- Laubie M., Schmitt H., Dronillat N. — *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1977, 296, 255-261.
- Le Bars D., Besson J. — *TIPS*, 1981, 2, 323-325.
- Lee H., Chai, C. et al. — *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1979, 8, 69-73.
- Lemaire L., Tseng R., Lemaire S. — *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1978, 75, 6240-6242.
- Leshner A., Walker W., Johnson A. et al. — *Physiol. Behav.*, 1973, 11, 705-711.
- Lewis, J., Caldecott-Hazard S., Cannon, J. — In: "Neurosecretion and brain peptides". ed. J.B. Martin et al. Raven Press, N.Y., 1981, 213-224.
- Lichtensteiger W., Felix D. — *Neurosci Lett.*, 1979, 13, 195.
- Liebman J., Pastor G. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1980, 61, 225-230.
- Ljungdahl A., Hökfelt T., Nilsson G. — *Neurosci.*, 1978, 3, 861-943.
- Limbird L., Lefkowitz R. — *Mol. Pharmacol.*, 1976, 12, 554-567.
- Loh H., Law P. — *Ann. Rev. Pharmacol.*, 1980, 20, 201-234.
- Loonen Y., Soudijn W. — *J. Physiol. (Paris)*, 1979, 75, 831-850.
- Lord J., Waterfield, D., Hughes, J., Kosterlitz H. — *Nature (Lond.)*, 1977, 267, 495-499.
- Lotti V., Yarbough G., Clineschmidt B. — *Psychopharmacology*, 1980, 70, 145-148.
- Mancia G., Ludbrook J. et al. — *Circ. Res.*, 1978, 43, 170-177.
- Marek K., Haubrich D. — *Biochem. Pharmacol.*, 1977, 26, 1817.
- Martucci C., Hahn E. — *Endocrinology Res. Commun.*, 1980, 6, 291-297.
- Manberg P., Youngblood, Kizer J. — *Brain Research*, 1982, 241, 279-284.
- Michelot R., Lenel V. et al. — *Life Sci.*, 1979, 24, 715-724.
- Miczek K.A. — *Psychopharmacology*, 1978, 60, 247-259.
- Miyamoto M., Nagawa Y. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1977, 44, 143-152.
- Mitchell R., Fleetwood-Walker S. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1981, 76, 119-120.
- Modigh K. — *Psychopharmacologia*, 1973, 33, 1-17.
- Moy S., Kohn L., Lee G., Meldolesi M. — *Res. Commun.*, 1977, 74, 1053-1059.
- Morz E., Brownstein M., Leeman S. — In: "Substance P." Eds U. Euler, B. Pernow, Raven Press, N.Y., 1977, 147-154.
- Mudge A., Leeman S., Fischbach G. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, 76, 526-530.
- Murase K., Nedeljkov V., Randić M. — *Brain Res.*, 1982, 234, 170-176.
- Nakamura S., Tepper J., et al. — *Neurosci. Lett.*, 1982, 30, 1, 57-62.
- Nemeroff C., Prange A. et al. — *Psychopharm. Comm.*, 1975, 1, 305-317.
- Nicoll R. — In: "Psychopharmacology: a generation of progress". Ed. M. Lipton, Raven Press, N.Y., 1978, 103-118.

- Niedrich H., Oehme P. et al. — In: "Perspectives in Peptide Chemistry", Karger, Basel, 1981, 344-355.
- Ninkovic M., Hunt S., Kelly J. — Brain Res., 1981, 230, 111-119.
- North R. — Life Sci., 1979, 24, 1527-1546.
- North R., Harin S., Snyder S. — Brain Res., 1973, 63, 435-439.
- Oehme P., Hecht K., Piesche L. et al. — Acta Biol. Med. Germ., 1980, 30, 469-477.
- Olds M., Williams K. — Brain Res., 1980, 194, 155-170.
- Paalzow G. — Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1978, 304, 1-4.
- Pardridge W., Mietus L. — Endocrinol., 1981, 109, 1138-1143.
- Pasternak G., Snyder S. — Mol. Pharmacol., 1974, 10, 183-193.
- Paterson A., Rickerby J. et al. — Physiol. and Behav., 1980, 24, 843-848.
- Pearse A., Polak Y. — In: "Gut hormones." Ed. S. Bloom. Edinburgh, 1978, 33-39.
- Peets J., Pomeranz B. — Pain, 10, 1981, Suppl. 1, 179.
- Perry W., Esposito R., Kornetsky — Pharmacol. Biochem. and Behav., 1981, 14, 247-249.
- Pert C., Kuhar M., Snyder S. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976, 73, 3729-3792.
- Petty A., Reid J. — Hypertension, 1981, 3, 142-147.
- Pfaff D. — Science, 1973, 182, 1148-1149.
- Pickel V., Joh T. et al. — Brain Res., 1979, 160, 387-400.
- Pinget M., Straus E., Yalow R. — Life Science, 1979, 25, 339-342.
- Plotnikoff N., Kastin A. — Arch. Pharmacodyn., 1974, 211, 211-224.
- Plotnikoff N., Breese G., Prange A. — Pharmacol., Biochem., Behav., 1975, 3, 665-670.
- Plotnikoff N., Kastin A. — Life Sci., 1976, 18, 1217-1222.
- Pomeroy S., Beubehand M. — Brain Res., 1979, 176, 143-147.
- Pomeranz B., Gurevich N. — Europ. J. Pharmacol., 1979, 60, 307-313.
- Prange A., Breese G. et al. — Life Sci., 1975, 16, 1907-1914.
- Prange A., Nemeroff Ch., Lipton M. — In: "Psychopharmacology: a generation of progress". Ed. M. Lipton et al., Raven Press, N.Y., 1978, 441-458.
- Rastogi R., Singhal R., Lapierre Y. — Psychopharmacology, 1980, 72, 85-91.
- Reid J., Dargie H. et al. — Lancet, 1977, 1, 1171.
- Reith M., Neidle A., Lajtha A. — Arch. Biochem. Biophys., 1979, 195, 478-484.
- Renaud L. — In: "Psychopharmacology: a generation of progress". Ed. M. Lipton, Raven Press, N.Y., 1978, 423-430.
- Renaud L., Padjen A. — In: "Centrally acting peptides". Ed. Y. Hughes McMillan, L., 1978, 59-84.
- Richter H., Crabbe J.C. — In: "Vitamins and Hormones". 1979, 37, 154-243.
- Richter H., Greven H. et al. — Biochem. and Biophys. Res. Comm., 1981, 98, 424-430.
- Richter H., Hannan T. et al. — Life Sci., 1980, 26, 337-345.
- Rubin P., Blaschke T., Guilleminant C. — Circulation, 1981, 63, 117-121.

- Sakamoto A. — *Nature*, 1966, 211, 1370—1371.
- Sander G., Giles T. et al. — *European J. Pharmacol.*, 1982, 78, 467—470.
- Sandman C., Miller L., Kastin A. — In: "Neuropeptide influences on the brain and behavior". Eds. L.H. Miller et al. Raven Press, N.Y. 1977, 1—9.
- Sastry B. — *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1980, 58, 97—101.
- Sato M., Akaike A., Takagi H. — *Brain Res.*, 1979, 169, 406—410.
- Sato M., Kawajiri S. et al. — *Neurosci. Lett.*, 1980, 16, 319—322.
- Schaeffer J., Axelrod J., Brownstein M. — *Brain Res.*, 1977, 38, 571—574.
- Schaz K., Stock G. et al. — *Hypertension*, 1980, 2, 395—407.
- Schellenberger M., Gordon J. — *Analyt Biochem.*, 1971, 39, 356—372.
- Schmitt F., Dev P., Smith B. — *Science*, 1976, 193, 114—120.
- Schwyzer R. — *Proc. R. Soc. Lond.*, 1980, 210, 5—20.
- Seelig S., Sayers G. et al. — *FEBS Lett.*, 1971, 19, 233.
- Shishido H., Kimishima K. — *Jap. J. Pharmacol.*, 1980, 30, 74.
- Shotman P., Gispen W.H. et al. — *Brain Res.*, 1972, 46, 349—362.
- Silbergeld E., Walters Y. — *Neurosci. Lett.*, 1979, 12, 119—126.
- Simon W., Schaz K. et al. — *Clin. Sci. Mol. Med.*, 1978, 65, 237—241.
- Sinclair S., Fox R. et al. — *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1980, 65, 181—188.
- Spindel E., Pettibone D., Wurtman R. — *Brain Res.*, 1981, 216, 323—331.
- Spirtes M., Plotnikoff N., Kustin A. — In: "International Congress of Pharmacology: 6th Proceedings". Oxford, 1976, 3, 121—129.
- Stapleton J., Merriman V. et al. — *Physiol. Psychol.*, 1979, 7, 427—436.
- Strahlendorf H., Strahlendorf J., Barnes C. — *Brain Res.*, 1980, 191, 281—288.
- Suzue T., Jessel T. — *Neurosci. Lett.*, 1980, 16, 161—166.
- Takeshita A., Tanaka S. et al. — *Circulation* 1975, 51, 788—742.
- Tanaka M., de Kloet E., de Wied et al. — *Life Sci.*, 1972, 20, 1799—1808.
- Taube H., Starke K., Borowski E. — *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1977, 299, 123—141.
- Telegdy G. — *Acta physiol. Acad. Sci. Hung.*, 1980, 55, 273—281.
- Telegdy G., Fekete M. et al. — In: "Aminergic and peptidergic receptors". Ed. E. Vizi. Pergamon Press, 1980, 169—185.
- Telegdy G., Kovács G.L. — In: "Brain mechanisms in memory and learning". Ed. Brazier. Raven Press, N.Y., 1979, 249—268.
- Terenius L. — In: "The Endorphins". Raven Press, N.Y., 1978, 315—326.
- Terenius L., Gispen W., de Wied D. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1975, 33, 395.
- Tortella F., Moreton S. — *Psychopharmacology*, 1980, 69, 143—147.
- Turnball M., Wheeler H. — *J. Pharm.*, 1980, 32, 803.
- Ungar G. — *Intern. Rev. Neurobiol.*, 1975, 17, 37—60.
- Unger Th., Schüll B. et al. — In: "Enzyme Inhibitors", Ed. U. Brodbeck, Verlag Chemie, Weinheim, 1980, 233—241.
- Urban J., de Wied. — *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1978, 8, 51—60.
- Urca G., Frenk H. et al. — *Sciences*, 1977, 197, 83—86.
- Uzan A., Kabouche M. et al. — *Neuropharmacology*, 1980, 19, 1075—1079.
- Vacca L., Abrahams S., Naftchi N. — *Brain Res.*, 1980, 182, 229—236.
- Verhoef J., Witter A., de Wied D. — *Brain Res.*, 1977, 131, 117—128.
- Versteeg D., Tanaka M. et al. — *Brain Res.*, 1978, 143, 561—566.

- Versteeg D.H., van Der Gugten J. et al. — *Brain Res.*, 1976, 113, 563-574.
- Versteeg D.H.G. — *Pharmac. Ther.*, 1980, 11, 535-557.
- Vizi E. — *Progr. in Neurobiology*, 1979, 12, 181-290.
- Vizi E., — *TIPS*, 1980, 7, 172-175.
- Waldmeier P., Kam R., Stocklin K. — *Brain Res.*, 1978, 159, 223-227.
- Walter R., Griffiths E., Hooper K. — *Brain Res.*, 1973, 60, 449-457.
- Walter R., Hoffman P. — In: "Neuropeptide Influence on the Brain and Behavior.", N.Y., 1977, 109.
- Webster J., Fox K. — *Behav. Biol.*, 1974, 12, 567-571.
- Wiegant V., Gispen W. — *Exp. Brain Res. (Suppl.)* 1975, 23, 219.
- Wilson S., Klein R. et al. — *Nature*, 1980, 288, 707.
- Wimersma-Greidanus T., de Wied D. — *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1976, 5, 29-33.
- Witte P. — *Psychopharmacology*, 1981, 73, 391-393.
- Witter A., Greven H., de Wied D. — *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1975, 193, 853-860.
- Woolf C., Barrett G. et al. — *Europ. J. Pharmacol.*, 1977, 45, 311-314.
- Wouters W., Bercken J. van den. — *Eur. Journ. Pharm.* 1979, 57, 353-363.
- Wuttke W. — *Acta endocrinol.*, 1979, 91, 419.
- Wünster M., Schultz R., Herz A. — *Life Sci.*, 1980, 27, 163-170.
- Yaksh T. — *Pain*, 1, 1981, 11, 293-346.
- Yaksh T., Jessel T. et al. — *Nature*, 1980, 286, 155-157.
- Yoshimi K., Tatsuo Sh. et al. — *Eur. J. Pharmacol.* 1981, 72, 145-152.
- Young G. — *Life Sci.*, 1980, 26, 1787-1792.
- Zamir N., Simanton R., Segal M. — *Brain Res.*, 1980, 184, 299-310.
- Zhang A., Pasternak G. — *Life Sci.*, 1981, 29, 843-851.
- Zieglgänsberger W., Bayerl H. — *Brain Res.*, 1976, 115, 111-128.
- Zieglgänsberger W., Tulloch G. — *Brain Res.*, 1979, 167, 53-64.
- Zorman G., Belcher G., Fields H. — *Pain*, 1981, 10, 136.
- Zukin R., Zukin S. — *Life Sci.*, 1981, 29, 2681-2690.
- Zwiers H., Veldhuis D. et al. — *Neurochem. Res.*, 1976, 1, 669-677.

Технический редактор Н.И.Ходес

Корректор З.В.Ерлашова

Подписано в печать 05.01.83 Л-77914 Формат 60x 90 1/16

Бум. офс.

Печать офсетная

Усл.печ.л. 9,25

Уч.-изд.л. 10,25

Тир. 700 экз.

Зак. 8130

Цена 1 р. 50 к.

Производственно-издательский комбинат ВИНТИ
140010, Люберцы 10, Московской обл., Октябрьский проспект, 403

ВНИИ
УП. ПЕЛОНА
ВНИИ
ВНИИ
ВНИИ

00.01=

00.02=

00.03=

00.04=

00.05=

00.06=

00.07=

00.08=

00.09=

00.10=

00.11=

00.12=

00.13=

00.14=

00.15=

00.16=

00.17=

00.18=

00.19=

00.20=

00.21=

00.22=

00.23=

00.24=

00.25=

00.26=

00.27=

00.28=

00.29=

Цена 1 р. 50 к.

300p

